MÉMOIRES

DU

MUSÉUM NATIONAL

D'HISTOIRE NATURELLE

NOUVELLE SÉRIE

TOME DIXIÈME

FASCICULE PREMIER

LUCIEN LEROUX

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ALDÉHYDE FORMIQUE

Sa recherche et son dosage par le β-naphtol en physiologie végétale, en chimie alimentaire, en hygiène

---

PARIS

ÉDITIONS DU MUSÉUM

57, Rue Cuvier (V^e^)

Janvier 1938

MÉMOIRES

DU

MUSÉUM NATIONAL

D'HISTOIRE NATURELLE

MÉMOIRES

DU

MUSÉUM NATIONAL

D'HISTOIRE NATURELLE

NOUVELLE SÉRIE

TOME DIXIÈME

FASCICULE PREMIER

LUCIEN LEROUX

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ALDÉHYDE FORMIQUE

Sa recherche et son dosage par le β-naphtol en physiologie végétale, en chimie alimentaire, en hygiène

---

PARIS

ÉDITIONS DU MUSÉUM

57, Rue Cuvier (V^e^)

Janvier 1938

MÉMOIRES DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

Nouvelle série, Tome X, Fascicule 1, Pages 1 à 68.

Publié le 4 janvier 1938.

CONTRIBUTION

A L'ÉTUDE DE

L'ALDÉHYDE FORMIQUE

Sa recherche et son dosage par le β-naphtol
en physiologie végétale,
en chimie alimentaire,
en hygiène.

par LUCIEN LEROUX

SOMMAIRE

INTRODUCTION (p. 2).

CHAPITRE I. — Les procédés de recherche et de dosage de l'aldéhyde formique (p. 4). — Recherche et dosage de l'aldéhyde formique au moyen du β-naphtol (p. 13).

CHAPITRE II. — L'aldéhyde formique dans les plantes (p. 18). — Difficultés de la recherche de l'aldéhyde formique dans les feuilles vertes (p. 27). — Recherches personnelles (p. 30).

CHAPITRE III. — L'aldéhyde formique dans les aliments conservés (p. 37). — Méthodes officielles utilisées pour la recherche et le dosage de l'aldéhyde formique dans les aliments (p. 40). — Difficultés de la recherche et du dosage du formol dans les conserves (p. 41). — Influence des acides aminés sur le dosage de l'aldéhyde formique au moyen de β-naphtol (p. 45). — Méthode nouvelle pour le dosage de l'aldéhyde formique libre contenu dans les conserves (p. 49).

CHAPITRE IV. — L'aldéhyde formique dans l'air (p. 52). — L'aldéhyde formique dans l'air normal (p. 52). — L'aldéhyde formique dans l'air des locaux désinfectés ou autres (p. 60).

CONCLUSIONS (p. 66).

INTRODUCTION

Peu de questions sont aussi discutées au point de vue de la valeur des techniques et des résultats que la recherche et le dosage de petites quantités d'aldéhyde formique.

Ce corps présente, on le sait, non seulement un grand intérêt industriel et thérapeutique, mais encore un immense intérêt biologique.

Son dosage sûr est d'une nécessité absolue pour son étude. La pratique journalière d'une méthode très sensible et très précise, découverte par notre Maître, M. le Pr Richard Fosse, et deux de ses collaborateurs, P.-E. Thomas et P. de Graeve, et basée sur l'emploi du β-naphtol, nous a incité à entreprendre ce travail.

Avec ce moyen nouveau, nous nous sommes proposé d'étudier la question de l'aldéhyde formique dans trois domaines où la détermination incontestable de très petites quantités de ce corps revêt la plus grande importance : en physiologie végétale, en chimie alimentaire, en hygiène.

* * *

Notre mémoire est divisé en quatre parties.

Dans la première, nous examinerons les techniques utilisées jusqu'à présent pour la recherche et le dosage de l'aldéhyde formique afin de juger les résultats acquis et de fixer la valeur de ceux que nous présentons.

Dans la seconde partie, nous étudierons la question discutée depuis plus d'un demi-siècle de l'existence de l'aldéhyde formique dans les feuilles vertes. Question d'un intérêt puissant, car de sa solution dépend la certitude de nos connaissances sur l'assimilation chlorophyllienne.

Dans la troisième partie, nous rechercherons dans quelles conditions la réaction d'identification et de dosage de l'aldéhyde formique peut être appliquée à l'analyse des conserves alimentaires : qu'il s'agisse de l'expertise de produits auxquels ce corps aurait été ajouté frauduleusement, ou qu'il s'agisse d'étudier les phénomènes chimiques que déclanche la conservation.

Enfin, dans la quatrième partie, nous examinerons l'aide que peut apporter cette technique analytique dans l'étude de l'atmosphère.

* * *

Au début de ce travail, qu'il nous soit permis d'exprimer notre respectueuse reconnaissance à M. le Pr Fosse, membre de l'Institut, pour ses nombreux conseils et son extrême bienveillance, à M. le Pr Javillier, membre de l'Institut, qui a bien voulu accepter de présider le jury de soutenance de ce travail. Leurs encouragements ont rendu notre tâche aisée.

Nous remercions également MM. les Prs Guichard et Plantefol qui ont accepté de faire partie de ce jury.

Enfin notre gratitude va à M. Demorlaine, Conservateur en Chef des Promenades, qui nous a autorisé à prélever dans les immenses richesses du domaine horticole de la Ville de Paris les plantes qui nous étaient utiles et à M. le Vétérinaire Colonel Fleuret qui nous a éclairé de sa compétence et fourni des matériaux pour l'étude des conserves alimentaires.

CHAPITRE PREMIER

LES PROCÉDÉS DE RECHERCHE ET DE DOSAGE DE L'ALDÉHYDE FORMIQUE

Les procédés de recherche et de dosage de l'aldéhyde formique sont nombreux et variés. On peut les classer de la manière suivante :

1° Réactions de coloration.

2° Formation de produits d'addition avec ou sans élimination d'eau.

3° Réactions d'oxydation.

Réactions de coloration.

Certaines réactions (type I) s'appliquent à tous les hydrates de carbone. Elles comportent l'action d'un acide ou d'un alcali et celle d'une substance de caractère phénolique. L'acide ou l'alcali provoquent la décomposition de l'hydrate de carbone ou, dans le cas présent, sa mise en liberté, et la substance phénolique réagit ensuite sur le produit formé [1].

D'autres réactions (type II) font toujours intervenir un acide mais utilisent ensuite l'action de l'aldéhyde formique sur les protides à noyau tryptophanique. Le phénomène est facilité par l'emploi de la chaleur ou d'un oxydant.

D'autres enfin (type III) consistent en une condensation de l'aldéhyde avec des bases aromatiques ou non (aniline, hydrazine, alcaloïdes, hydroxylamine, etc.). Au contact de ces bases, il y a formation de dérivés méthyléniques que l'on transforme ensuite en colorants variés par décomposition au moyen de la chaleur, d'acides ou d'alcalis.

Voici les principales réactions de coloration.

Type I

Réaction de Cohn. Résorcine en solution aqueuse à 0,1 %, acide sulfurique concentré, en parties égales.

Anneau rouge violet. Sensibilité 1 % [2].

1. Abderhalden (E.). Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Abt. I. Chemische methoden. Kohlenhydrate I Teil. Urban., Berlin, 1922, p. 34, 35, 48.
2. Cohn (R.). *Chem. Zeit.*, 1921, p. 997.

Réaclion de Lebbin. Solution alcaline à 5 % de résorcine (5 %).

Coloration rouge [1].

Réaction de Fellenberg. Solution sulfurique de phénolphtaléine.

Anneau rouge carmin. Sensibilité 0,1 % [2].

Réaction de Tollens. Solution chlorhydrique de phloroglucine.

Trouble blanc se transformant en flocons rouge clair [3].

Réaction de Jorissen. Solution alcaline de phloroglucine.

Coloration rouge intense [4]. Sensibilité : 0,0005 %.

Réaclion de Pitarelli. Solution alcaline de métol.

Coloration rouge sang donnant avec la magnésie une laque bleue. Sensibilité 0,001 % [5].

Réaction de Chicrici. Solution alcoolique d'acide gallique à 5 % et acide sulfurique.

Coloration vert-émeraude. Bandes d'absorption dans le rouge. Sensibilité : 0,002 % [6].

Réaction de Sanchez. Solution d'acide gallique à 0,01 % dans l'acide sulfurique

Même réaction que précédemment [7].

Réaction de Nicolas. Diamidophénol en cristaux.

A la température du bain-marie bouillant, fluorescence verte [8].

Réaction de Thévenon. Métol (sulfate de méthylparamidophénol).

Au bain-marie bouillant, coloration rouge [9].

Type II

Réaclion de Voisenet. Eau albumineuse et acide chlorhydrique concentré contenant 2 % d'acide nitreux. A 50° C.

Coloration violette. Sensibilité : 0,0001 % [10].

Réaction de Fulton. Eau albumineuse, acide sulfurique dilué au 1/2 et brome.

Coloration violette [11].

Réaction de Farsteiner ou de Follinger. Solution de peptone, acide sulfurique dilué au 1/2 et chlorure ferrique.

Coloration violette [12].

1. Ogier (J.) et Kohn-Abrest (E.). Traité de chimie toxicologique, Paris, Doin, 1924, t. I, p. 440.
2. Fellenberg (Th.). *Mitt. Lebensm. u. Hyg.*, 1935, t. XXVI, p. 212.
3. D'après Coulouma (J.). *Le formol*, Montpellier, 1922, p. 54.
4. Spoto (P.). *Journ. Pharm. et Chimie*, 1932, t. XV, p. 257.
5. Pitarelli (J.). *Ann. Falsif.*, 1921, t. XIV, p. 415.
6. Chicrici (Ed.). *Ann. Chimie anal.*, 1929, t. XVIII, p. 504.
7. Sanchez (A.). *Ann. Falsif.*, 1932, t. XXV, p. 435.
8. Nicolas (G.). *Bull. Soc. chim.*, 1905, t. XXXIII, p. 735.
9. Cité par Gérard (C.) et Bonn (C.). *Traité d'analyse des denrées alimentaires Paris*, Vigot, 1908, p. 469.
10. Voisenet (L.). *Bull. Soc. Chim.*, 1905, t. XXXIII, p. 1198.
11. Fulton (C.). *Ind. Eng. Chem.*, 1931, t. III, p. 199.
12. Cité par Kohn Abrest. *Loc. cit.*, p. 441. — Naves (A.). *Parfums de France*, 1935, p. 72.

Réaction de Henner. Utilisée pour la recherche du formol dans le lait. Les protéines de ce liquide remplacent l'eau albumineuse ou la peptone. Acide sulfurique concentré et chlorure ferrique.

Coloration violette. Sensibilité : 0,001 mg. par cc. [1].

La réaction de Farnsteiner a été utilisée pour le dosage colorimétrique.

Type III.

Réaction de Bonnet. Chlorhydrate de morphine en milieu sulfurique au sixième.

Coloration purpurine. Sensibilité : 0,001 mg. par cc. [2].

Réaction de Aloy et Valdiguié. Solution de codéine à 1 %. Acide sulfurique pur ; solution d'acétate de fer à 1 %.

Coloration bleue. Sensibilité : 0,001 mg. par cc. [3].

Réaction de Schiff. Fuchsine au millième décolorée par le gaz sulfureux ou le bisulfite de soude (10 %) en milieu sulfurique à 1 %.

Coloration rouge caractéristique par la position du maximum d'absorption [4].

Sensibilité : 0,001 mg. par cc.

Réactions de Trillat. 1. Fuchsine neutre en solution aqueuse à 10 %.

Coloration bleue [5].

2. Diméthylaniline. Acide sulfurique normal. Acide acétique. Oxyde de plomb.

Dans une première phase qui dure trois heures, on prépare le produit de condensation

$$CH^2 \begin{cases} C^6H^4N\,(CH^3)^2 \\ C^6H^4N\,(CH^3)^2 \end{cases}$$

en chauffant au bain-marie la solution formolée additionnée d'acide sulfurique et de diméthylaniline. L'excès de celle-ci est chassé par un courant de vapeur après neutralisation.

Dans une seconde phase, le produit de condensation est dissous dans l'acide acétique puis oxydé à chaud avec une solution tenant en suspension de l'oxyde de plomb (1 gr. par litre).

Coloration bleue due à la formation de l'hydrol.

$$CHOH \begin{cases} C^6H^4N\,(CH^3)^2 \\ C^6N^4N\,(CH^3)^2 \end{cases}$$

1. Rupp (E.) et Schlee (H.). *Bioch. Zeits.*, 1926, t. CLXXII, p. 373.
2. Bonnet (J.). *Journ. Pharm. et Chimie*, 1905, t. I, p. 559.
3. Aloy (P.) et Valdiguié (J.). *Ann. Chim. anal.*, 1927, t. IX, p. 9.
4. Rumpf (P.). *Bull. Soc. chim.*, 1932, t. LI, p. 503. — Naves (A.), *loc. cit.*, p. 71.
5. Trillat (M.). *C. R. Ac. Sc.*, 1893, t. CXIII, p. 1382 ; *Bull. Soc. chim.*, 1899, t. XXI, p. 354 ; *Ann. Inst. Pasteur*, 1905, t. XXIII, p. 719.

Réaction de Cambier et Brochet. Solution concentrée de chlorhydrate d'hydroxylamine.

Dans une première phase, on prépare une oxime à froid suivant l'équation :

$$NH^2OH, HCl + CH^2O = CH^2NOH + H^2O + HCl$$

Dans une seconde phase, l'oxime est décomposée, à l'ébullition, en donnant de l'acide cyanhydrique d'après la réaction :

$$(CH^2\text{-}N\text{-}OH)^3 = 3\ HCN + 3H^2O$$

que l'on transforme en bleu de Prusse par addition d'un peu de soude, de quelques gouttes d'un sel ferrique, et d'acide chlorhydrique [1].

Réaction de Pratesi. Solution de nitroprussiate de soude, cristaux d'un sel d'hydroxylamine. Soude 2 N.

Coloration rouge violet virant au jaune par excès d'alcali [2].

Réaction de Cavati. Solution chlorhydrique de chlorhydrate d'hydrazine. Chlorure ferrique. Acide sulfurique concentré.

Coloration rouge passant à l'orange [3].

Réaction de Schryver. Solution de chlorhydrate de phénylhydrazine à 1 %. Solution de ferricyanure de potassium à 5 %. Acide chlorhydrique concentré.

Coloration rose due à l'oxydation du produit de condensation et à la formation d'un sel coloré avec l'acide [4].

En présence d'autres matières colorantes (chlorophylle par exemple) on étend d'eau et on agite avec de l'éther. Le chlorhydrate de chromatogène passe dans l'éther d'où il peut être retransformé en sel coloré par addition d'acide chlorhydrique concentré.

Quelques réactions colorées de ce type ont donné lieu à des modes de dosage : réaction de Schiff, réaction de Trillat, réaction de Cambier et Brochet, réaction de Schryver.

Avec les réactions de Schiff, de Trillat, de Schryver, le dosage est purement colorimétrique et aboutit à la comparaison de la teinte obtenue à partir d'un volume déterminé de solution formique étudiée avec celles d'une gamme préparée de la même manière.

La réaction de Cambier et Brochet, au contraire, donne lieu à une méthode de dosage acidimétrique que nous examinerons plus loin.

1. Cambier (R.) et Brochet (A.). *Bull. Soc. chim.*, 1894, t. XIII, p. 406.
2. Pratesi (P.). *Chim. et Ind.*, 1932, t. XXVII, p. 1294. — Jean (F.). *Journ. Pharm. et Chimie*, 1899, t. IX, p. 405.
3. Arnold (F.) et Mentzel (A.). *Journ. Pharm. et Chimie*, 1902, t. XIV, p. 30.
4. Bertrand (G.) et Thomas (P.). *Guide de manipulations de chimie biologique*, Paris, Dunod, 1913, p. 441. — Wattiez (N.) et Sternon (P.). *Éléments de chimie végétale*, Paris, Masson, 1935, p. 443.

Réactions de précipitation avec ou sans élimination d'eau.

Ces réactions sont surtout utilisées pour le dosage.

Méthodes à l'aniline. Le procédé à la diméthylaniline de Trillat décrit précédemment peut être utilisé pour un dosage pondéral. Il suffit de peser, après évaporation de sa solution éthérée, le tétraméthyldiamidodiphénylméthane résultant de la condensation (première phase du procédé à l'hydrol).

Le même auteur a indiqué un autre procédé qui utilise une solution aqueuse d'aniline à trois pour mille. Il suffit d'y laisser tomber goutte à goutte quelques centimètres cubes de solution formolée.

Il se forme un précipité blanc suivant la réaction :

$$C^6H^5NH^2 + CH^2O = C^6H^5N.CH^2 + H^2O$$

Le précipité séché à 40° C. contient 0,2857 gr. de formol par gramme [1].

Klar précipite le formol par un excès d'aniline et titre l'excès de cette base [2].

Toussaint, Détrié, Vérain, utilisant la même réaction, mesurent la densité optique de la solution opalescente au moyen du photomètre de Vernes [3].

Méthode à la diméthyldihydrorésorcine. Dans une solution à 5-10 pour mille de ce corps le formol détermine un précipité blanc cristallin de méthylène-bis-diméthyldihydrorésorcine, encore appelé formodimédon, suivant l'équation :

$$CH^2O + 2\,H^2C\left\langle\begin{matrix}CO - CH^2\\ CO - CH^2\end{matrix}\right\rangle C\left\langle\begin{matrix}CH^3\\ CH^3\end{matrix}\right. \longrightarrow$$

$$H^2O + \begin{matrix}CH^3\\ CH^3\end{matrix}\!\!>C\left\langle\begin{matrix}CH^2 - CO\\ CH^2 - CO\end{matrix}\right\rangle CH - CH^2 - CH\left\langle\begin{matrix}CO - CH^2\\ CO - CH^2\end{matrix}\right\rangle C\left\langle\begin{matrix}CH^3\\ CH^3\end{matrix}\right.$$

Ce précipité peut être utilisé pour le dosage [4].

Méthodes à l'hydrazine. Par ses deux groupes NH^2, l'hydrazine peut s'unir une ou deux fois avec élimination de une ou deux molécules d'eau avec les aldéhydes ou les cétones pour donner naissance aux combinaisons

$$R - CH = N - NH^2 \quad \text{et} \quad R - CH - N - N = CH\text{-}R$$

$$\begin{matrix}R^1\\ R^2\end{matrix}\!\!>C = N - NH^2 \quad \text{et} \quad \begin{matrix}R^1\\ R^2\end{matrix}\!\!>C = N - N \equiv C<\begin{matrix}R_1\\ R^2\end{matrix}$$

1. Trillat (M.). *C. R. Ac. Sc.*, 1893, t. CXVI, p. 892. — Kohn-Abrest (E.), *loc. cit.*, p. 442.
2. Klar (G.). *Pharm. Zeit.*, XL, p. 611.
3. Toussaint (G.), Détrié (J.), Vérain (M.). *C. R. Soc. Biol.*, 1934, t. XCVII, p. 193.
4. Jonescu (M.). *Bull. Soc. Chim.*, 1928, t. XXXXIII, p. 677. — Hollo (C.), Polychroniade (F.). *Journ. Pharm. et Chimie*, 1934, t. XIX, p. 273. — Naves (A.). *Loc. cit.*, p. 72.

Pfaff opère cette transformation au moyen de l'hydrate d'hydrazine et titre l'excès de celle-ci par l'acide sulfurique [1].

Stempel se base sur la propriété que possède le groupe CHO de réagir sur le groupe aminé comme nous l'expliquerons plus loin et dose l'acidité qui en résulte [2].

Riegler, utilisant le sulfate d'hydrazine, dose l'excès d'hydrazine n'ayant pas réagi, gazométriquement, par la mesure de l'azote dégagé par ce corps au contact de l'acide iodique [3] suivant la réaction :

$$5(N^2H^4SO^4H^2) + 4\ IO^3H = 5\ N^2 + 12\ H^2O + 5\ SO^4H^2 + 4\ I$$

Une variante du procédé est fournie par Orlow. L'azote du sulfate d'hydrazine est dégagé par une solution alcaline d'iodure mercurique et d'iodure de potassium. Il se précipite du mercure en quantité correspondante et l'on dose ce métal.

Méthodes à la phénylhydrazine. La phénylhydrazine, $C^6H^5 - NH - NH^2$, découverte par Em. Fischer, réagit sur les aldéhydes et les cétones en donnant des phénylhydrazones.

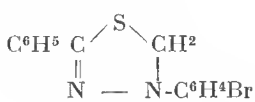
L'aldéhyde formique donne avec elle plusieurs combinaisons dont l'anhydroformaldéhydephénylhydrazine de Wellington et Tollens [4].

Avec la paradihydrazinodiphényle $\begin{array}{l} C^6H^4 - NH - NH^2 \\ | \\ C^6H^4 - NH - NH^2 \end{array}$ l'aldéhyde formique donne la réaction :

$$\begin{array}{l} C^6H^4 - NH - NH^2 + CH^2O \\ | \\ C^6H^4 - NH - NH^2 + CH^2O \end{array} = \begin{array}{l} C^6H^4NH - N = CH^2 + H^2O \\ | \\ C^6H^4NH - N = CH^2 + H^2O \end{array}$$

à la température de 50-60°. L'hydrazone peut être utilisée pour le dosage (1 gr. = 0,2521 gr. d'aldéhyde formique) [5].

Enfin, signalons qu'en présence d'acide chlorhydrique alcoolique, l'aldéhyde formique donne avec le phénylthiohydrazine bromé un phényl-5-parabromophényl-3-dihydro 2-3 thiodiazol 1. 3. 4 [6]



de point de fusion 112,5-113,5 qui peut servir à l'identification.

1. Pfaff (K.). *Chem. Zeit.*, t. XXVI, p. 701. — Neubaner (C.). *Ber. deuts. chem. Ges.*, 1901, t. XXXII, p. 1961.
2. Stempel (B.). *Zeits. anal. Chem.*, 1933, t. XCI, p. 412.
3. Biegler (B.). *Zeits. ang. Chem.*, t. XL, p. 92. — Barral (E.). *Précis d'analyse chimique*, Paris, Baillière, 1927, II, p. 366.
4. Wurtz. *Dictionnaire de Chimie*, 2e suppl., t. IV, p. 299.
5. Barral. *Loc. cit.*, p. 363.
6. Wuyts (H.), Wachsmuth (H.). *Journ. Pharm. et Chimie*, 1935, t. XXII, p. 289 et 296.

Méthode à l'hydroxylamine. A froid, une solution de chlorhydrate d'hydroxylamine donne avec l'aldéhyde formique l'isomère triple de la formaldoxime suivant l'équation :

$$NH^2OH,HCl + CH^2O = CH^2NOH + H^2O + HCl.$$

Cet isomère ne possède pas de réaction alcaline et ne se combine pas avec l'acide chlorhydrique qui devient libre. Pour connaître le poids d'aldéhyde formique entré en réaction, il suffit de doser acidimétriquement l'acide chlorhydrique mis en liberté en employant l'orangé Poirier comme indicateur [1].

Méthode à l'ammoniaque. Par évaporation avec un excès d'ammoniaque l'aldéhyde formique est transformée en hexaméthylènetétramine suivant l'équation :

$$6\ CH^2O + 4\ NH^3 = N^4 — (CH^2)^6 + 6H^2O.$$

Le poids de l'hexaméthylènetétramine multiplié par 1,286 donne celui de l'aldéhyde [2].

On peut aussi doser l'ammoniaque restée libre après vingt-quatre heures de contact [3].

Méthodes au bisulfite. Comme d'autres aldéhydes, avec le bisulfite de soude, l'aldéhyde formique donne une combinaison cristalline de formule [2]

$$SO^3NaH — CH^2O,H^2O\ [4].$$

Cette combinaison peut être pesée.

On peut aussi déterminer l'excès de bisulfite employé au moyen d'une solution d'iode [5].

On peut enfin (cas du trioxyméthylène) utiliser le fait que la combinaison bisulfitée est neutre à la phtaléine pour doser l'acide sulfurique nécessaire à la réaction :

$$6\ SO^3Na^2 + 2\ (CH^2O)^3 + 3\ SO^4H^2 = 2\ [(SO^3HNa)^3 + (CH^2O)^3] + 3\ SO^4Na^2.$$

Méthodes aux cyanures. En solution alcaline ou neutre, une molécule de formol fixe exactement une molécule de cyanure suivant la réaction :

$$KCN + CH^2O = N = C — CH^2OK$$

Il se forme une combinaison potassique du nitrile de l'acide glycolique et

1. Cambier (R.) et Brochet (A.). *Ann. de Microgr.*, 1895, t. VII, p. 93.
2. Gaillot (M.). *Ann. Sc. agron.*, 1909, t. II, p. 2. — Kohn-Abrest. *Loc. cit.*, p. 443. — Barral. *Loc. cit.*, p. 360.
3. Legler. *Ber. deuts. chem. Ges.*, 1883, t. XVI, p. 1333. — Lockemann. *Ber. deuts. chem. Ges.*, 1889, t. XXII, p. 1929.
4. Seyewetz (A.), Gibello (A.). *Bull. Soc. Chim.*, 1904, t. XXXI, p. 691. — Gros (R.). *Journ. Pharm. et Chimie*, 1922, t. XXVI, p. 425. — Enry (B.). *Zeits. anal. Chem.*, 1933, t. XCI, p. 412.
5. Donnaly (R.-H.). *Chim. et Ind.*, 1933, t. XXX, p. 1051.

l'on dose, au moyen de nitrate d'argent, en milieu acidifié, le cyanure en excès (Romijn).

Schulek évite cette acidification en ajoutant du sulfate de magnésium

$$2\,CH^2OKCN + SO^4Mg + 6\,H^2O = 2\,CH^2OH\text{-}COOK + Mg(OH)^2 + SO^4(NH^4)^2$$

Le nitrile glycolate de potassium se trouve de la sorte transformé en ammoniaque et glycolate de potassium qui, en milieu alcalin, ne gêne pas le dosage.

On peut enfin, après avoir acidifié la solution formol-cyanure, ajouter un excès de brome, fixer cet excès avec une solution de phénol à 5 % puis ajouter un peu d'iodure de potassium et titrer l'iode mis en liberté au moyen de l'hyposulfite [1].

Réactions d'oxydation.

Le principe consiste à transformer l'aldéhyde en acide formique. On dose celui-ci acidimétriquement ou pondéralement ; ou bien on détermine la quantité d'oxydant utilisée dans la réaction.

Parfois, on transforme intégralement l'aldéhyde formique en anhydride carbonique et l'on dose celui-ci.

Méthodes à l'argent. En *milieu alcalin*, on a la réaction :

$$2\,Ag^2O + 2\,NaOH + HCHO = 2\,H - COONa + 4\,Ag + 2H^2O$$

On pèse l'argent réduit.

On peut aussi doser l'acide formique produit, à l'état de sel alcalin, par réduction du chlorure mercurique suivant l'équation :

$$HCOONa + 2\,HgCl^2 = Hg^2Cl^2 + CO^2 + HCl + NaCl.$$

Le calomel formé est pesé ou dosé par l'iode et l'hyposulfite.

La méthode a été utilisée par Curtius et Franzen pour l'étude des aldéhydes présents dans les distillats aqueux des feuilles [2].

En *milieu acide* avec le nitrate d'argent, on a la réaction :

$$3\,HCHO + ClO^3H + NO^3Ag = 3\,H - COOH + NO^3H + AgCl.$$

On titre l'excès d'argent ajouté par le sulfocyanure d'ammonium.

Méthodes à l'iode. En milieu alcalin, ou en présence de carbonate de soude, l'aldéhyde formique réagit avec l'iode de la manière suivante [3] :

1. Romijn (G.). *Zeits. anal. Chem.*, 1899, t. XXXVI, p. 18. — Schulek (E.). *Ann. Chim. anal.*, 1926, t. VIII, p. 21.

2. Orchard (D.). *Analyst.*, XXII, p. 4. — Vanino (A.). *Zeits. anal. Chem.*, 1901, t. XL, p. 720. — Briner (E.), Meier (R.). *Helv. chim. Acta*, 1929, t. XII, p. 533. — Curtius (F.), Franzen (B). *Ber. deuts. chem. Ges.*, 1912, t. XLV, p. 1716.

3. Bougault (M.). *Journ. Pharm. et Chimie*, 1917, t. XVI, p. 33. — Bougault (M.), Gros (A.). *Journ. Pharm. et Chimie*, 1922, t. XXVI, p. 5 et 421.

$$HCHO + I^2 + 3\,KOH = H - COOK + 2\,IK + 2\,H^2O.$$

On dose l'iode en excès au moyen de l'hyposulfite.

La méthode à l'iodomercurate potassique, applicable à tous les aldéhydes, est basée sur le même prineipe

$$R - CHO + H^2O + 2\,I = 2\,HI + R - COOH$$

Le sel mercurique sert d'intermédiaire : il se réduit et l'on dose le sel mercureux produit par l'iode et l'hyposulfite.

Méthode à l'hypochlorite. En milieu alçalin, l'aldéhyde formique est transformé en formiate qui abaisse proportionnellement le titre de l'aleali. Du dosage de celui-ei on déduit la quantité d'aldéhyde mise en jeu [1].

Méthode à l'eau oxygénée. En milieu alcalin, l'eau oxygénée réagit suivant l'équation :

$$2\,HCHO + 2\,NaOH + H^2O^2 = 2\,HCOO\,Na + 2\,H^2O + H^2$$

On dose la quantité de soude non transformée en formiate [2].

Les méthodes au *permanganate* alealin s'appuient sur le même principe [3].

Méthode au bichromate. Due à Nicloux, cette méthode est basée sur la réaction

$$3\,HCHO + 2\,CrO^7K^2 + 8\,SO^4H^2 = 2\,SO^4K^2 + 2\,(SO^4)^3Cr^2 + 3\,CO^2 + H^2O.$$

L'aldéhyde formique est transformé intégralement en gaz carbonique que l'on dosc gazométriquement ou pondéralement (30 milligr. d'aldéhyde formique donnent 44 milligr. de CO^2) [4].

***

Ces méthodes de reeherche et dc dosage nombreuses et variécs ont une valeur très inégale.

La plupart des *réactions de coloration* sont purement qualitatives. Celles des types I et II, quoique très sensibles, ne sont pas spécifiques. Ellcs sont fournies par les divers aldéhydes gras et souvent par les cétones. Il en est de même pour les réaetions du type III utilisant les alcaloïdes [5].

La réaction de Schiff avee examen spectrométrique, celle de Trillat à l'hy-

1. Ormandy (W. R.) , Craven (E. C.). *Ann. Chim. anal.*, 1923, t. V, p. 219.
2. Mach (F.), Hermann (R.). *Zeits. anal. Chem.*, 1923, p. 104. — Blank (A.), Friskenbeiner (A.). *Ber. deul. chem. Ges.*, 1898, t. XXXI, p. 2979. — Burki (F), Schaaf (A.). *Helv. chim. Acla*, 1921, t. IV, p. 418.
3. Smith (H.). *Analysl.*, t. XXI, p. 148. — Jones (C.). *Amer. Chem. Journ.*, t. XVII, p. 539.
4. Nicloux (M.). *Bull. Soc. Chim.*, 1897, t. XVII, p. 839 et 1913, t. XIII, p. 937.
5. Kling (A.), Lassieur (A.). *Chim. et Ind.*, 1924, t. XII, p. 1009. — Fulton (E.). *Ind. Eng. Chem.*, 1931, t. III, p. 200.

drol, celle de Cambier et Brochet à l'hydroxylamine, enfin, celle de Schryver, sous les réserves formulées plus loin, sont plus caractéristiques.

Cependant, malgré cette incertitude, les méthodes par réactions colorées à cause de leur rapidité ont été jusqu'à présent généralement utilisées pour la recherche et le dosage de l'aldéhyde formique dans les divers milieux.

Il paraît donc nécessaire de réviser les connaissances ainsi acquises sur le formol.

Les méthodes basées sur l'*oxydation* de l'aldéhyde formique et l'obtention de formiates, voire de gaz carbonique, méritent le même reproche. Dans les conditions signalées, de très nombreux corps organiques sont suseeptibles de fournir de l'acide formique, et bien plus eneore du gaz carbonique. D'autre part, l'oxydation est une opération difficile à limiter. Elle peut se poursuivre sur l'acide formique obtenu [1].

Bien préférables sont les *méthodes de précipitation* avee obtention de dérivés cristallisés qui peuvent être earaetérisés par l'examen mieroseopique et la détermination du point de fusion. Malheureusement, ees méthodes sont toujours d'une application délieate, si la dose d'aldéhyde formique est faible, c'est-à-dire se trouve eomprise entre 1 et 300 milligrammes par litre. D'autre part leur exécution est longue.

La méthode de reeherche et de dosage de l'aldéhyde formique au moyen du β-naphtol due à notre maître M. Richard Fosse et à ses eollaborateurs [2] se rattache à ee groupe. Mais son application est aisée et son exécution rapide.

Nous allons l'étudier en détail.

Recherche et dosage de l'aldéhyde formique au moyen du β-naphtol.

L'aldéhyde formique (une moléeule) réagit sur le β-naphtol, en solution ehlorhydrique ou acétique, pour donner le dinaphtolméthane,

$$CH^2O + \begin{matrix} H\text{-}C^{10}H^6OH \\ H\text{-}C^{10}H^6OH \end{matrix} \rangle = H^2O + CH^2 \langle \begin{matrix} C^{10}H^6OH \\ C^{10}H^6OH \end{matrix}$$

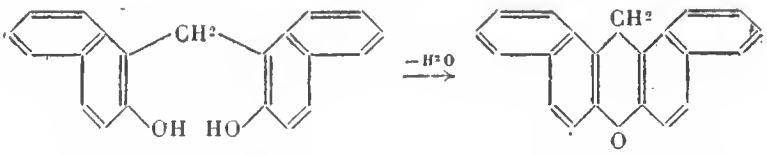
découvert par Hosaeus et étudié par Abel et Wolff [3].

En perdant une moléeule d'eau, le dinaphtolméthane se eyelise en formant le dinaphtopyrane découvert par Wolff

$$CH^2 \langle \begin{matrix} C^{10}H^6OH \\ C^{10}H^6OH \end{matrix} \longrightarrow CH^2 \langle \begin{matrix} C^{10}H^6 \\ C^{10}H^6 \end{matrix} \rangle O + H^2O.$$

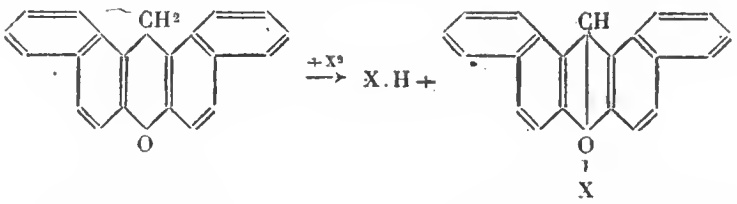
1. Bougault (M.), Gros (G.). *Loc. cit.*, p. 425.
2. Fosse (R.), Thomas (P.-E.), de Graeve (P.). *C. R. Ac. Sc.*, 1935, t. CC, p. 1450.
3. Hosaeus (H.). *Ber. deuts. chem. Ges.*, 1892, t. XXV, p. 2213. — Abel (J.). *Ber. deuts. chem. Ges.*, 1892, t. XXV, p. 3478. — Wolff (D.). *Ber. deuts. chem. Ges.*, 1892, t. XXVI, p. 84. — Breslauer (J.). *Sur quelques nouvelles réactions de condensation de l'aldéhyde formique.* Thèse Doctorat d'Université, Grenoble, 1907, p. 27 et 47.

ou



Dinaphtolméthane Dinaphtopyrane.

Le dinaphtopyrane engendre à son tour, au contact des halogènes, des corps cristallisés fortement colorés: les sels de dinaphtopyryle [1] étudiés par Fosse.



Dinaphtopyrane. Sels de Dinaphtopyryle.

Ces sels sont doués d'une remarquable activité chimique. Ils sont de très faible solubilité, de poids moléculaire élevé, de cristallisation aisée, toutes conditions favorables à la caractérisation et au dosage [2].

La condensation de l'aldéhyde formique et du β-naphtol est quantitative dans les conditions suivantes : température de l'ébullition maintenue pendant un quart d'heure et ramenée ensuite à 60° C.; concentration en aldéhyde formique, 5 à 200 milligrammes par litre, soit 0,5-20 milligrammes pour 100 centimètres cubes ; concentration en β-naphtol, 250 à 300 milligrammes pour 100 centimètres cubes ; concentration en acide chlorhydrique à 22° Bé, 10 cc. pour 100 centimètres cubes de solution.

Mode opératoire.

On introduit dans un ballon, pouvant s'adapter par rodage à un réfrigérant ascendant :

1. Fosse (R.). *Bull. Soc. chim.*, 1902, t. XXVII, p. 496, et 1903, t. XXIX, p. 420. Fosse (R.)., Robyn (A.). *C. R. Ac. Sc.*, 1903, t. CXXXVI, p. 1566.

2. Fosse (R.). *Ann. Chim. et Phys.*, 1904, t. II, p. 267. — Fosse (R.), Lesage (L.). *C. R. Ac. Sc.*, 1905, t. CXL, p. 1538 ; t. CXLI, p. 625 ; 1906, t. CXLIII, p. 1543. — Lesage (L.). *Contribution à l'étude des sels de pyryle.* Thèse de doctorat ès sciences, Lille, 1912. — Fosse (R.). *Bull. Soc. chim.*, 1909, t. V, p. 692 et p. 787. — Fosse (R.). *C. R. Ac. Sc.*, 1912, t. CLIV, p. 1912. — Fosse (R.). *C. R. Ac. Sc.*, 1902, t. CXXXV, p. 39530.

Solution formolée 100 cc., β-naphtol [2], 300 mg., acide chlorhydrique 10 cc. On chauffe au reflux et on agite le ballon pour faciliter la dissolution du naphtol [3]. A peine celui-ci a-t-il disparu que la solution se trouble et dépose des cristaux de dinaphtolméthane [4]. Après quinze minutes d'ébullition, on laisse refroidir le produit de la réaction vers 60°. On détache alors le ballon du réfrigérant, après avoir rincé celui-ci avec quelques centimètres cubes d'eau distillée à 60°, et l'on porte au bain-marie à 60° pendant un temps variant de quinze minutes à quarante-cinq minutes suivant que le précipité paraît plus ou moins abondant.

Après ce temps, le précipité est parfaitement rassemblé et le liquide qui baigne les cristaux est absolument limpide.

On essore à la trompe sur un filtre lavé aux acides et taré, fixé sur l'entonnoir d'argent à surface concave de Fosse [5] utilisé pour recueillir la xanthylurée. On lave à deux ou trois reprises avec de l'eau portée à 60° [6]. On sèche à 100° pendant une heure environ. Le poids de matière ainsi obtenu, divisé par 10, représente la quantité d'aldéhyde formique contenu dans le volume de liqueur analysée.

L'erreur commise est comprise entre 0,1 et 1 % avec les dilutions de formol de 30 à 200 milligrammes par litre. Elle atteint rarement 5 % avec les dilutions de 5 à 30 milligrammes par litre. La méthode convient donc parfaitement aux expériences de chimie biologique. Elle est spécifique [7], mais l'existence de l'aldéhyde formique ne doit être affirmée qu'après caractérisation du dinaphtolméthane.

Plusieurs procédés sont utilisables : la cristallisation, la transformation en acétate de dinaphtolméthane, la transformation en dinaphtopyranc et en sels de pyryle.

1. La nécessité de cette concentration en acide chlorhydrique est démontrée par les essais suivants : 100 cc. de solution formique contenant 18 mg. 8 d'aldéhyde sont soumis au dosage avec 1, 5, 10 % d'acide chlorhydrique et 0,3 % de β-naphtol. Le temps d'ébullition est de 15 minutes dans tous les cas.

Résultats.

Avec 1 % d'acide chlorhydrique : Aldéhyde trouvé 6,57 mg. Erreur 65,42 %.
Avec 5 % d'acide chlorhydrique : — 13,55 mg. Erreur 28,19 %.
Avec 10 % d'acide chlorhydrique : — 18,90 mg. Erreur 0,53 %.

2. Le β-naphtol du commerce doit être purifié par deux cristallisations successives. A cet effet, on le dissout dans l'eau bouillante à raison de 5 gr. par litre. On filtre à chaud sur papier Chardin. Le β-naphtol cristallise par refroidissement. Les cristaux sont lavés et essorés à l'eau distillée tiède, puis redissous dans l'eau bouillante à la même concentration et de nouveau abandonnés à la cristallisation. On sèche sur papier filtre.

3. Fosse (R.), Thomas (P.-E.), de Graeve (P.). *C. R. Ac. Sc.*, 1935, t. CCI, p. 105.

4. Avec une solution formolée très diluée (moins de 10 milligr. par litre), les cristaux tombent seulement lors du refroidissement à 60°, et parfois après une vingtaine de minutes de repos à cette température.

5. Fosse (R.). *L'urée*, Paris, Presses universitaires, 1928, p. 33.

6. Le volume total de l'eau de lavage ne doit pas excéder 20 centimètres cubes. La solubilité du dinaphtolméthane dans ce volume d'eau pure à la température de 55-60° est d'environ 0 mg. 3, ce qui correspond à 0 mg. 03 de formol.

7. L'acide glyoxylique se combine aussi au β-naphtol, mais plus lentement et plus difficilement. D'autre part la matière obtenue est différente du dinaphtolméthane. Alors que celui-ci fond en se décomposant à 191-195°, le produit en question fond à 215°.

1. *La cristallisation.* On chauffe au microbrûleur, dans un petit tube à essais, 0,1 mgr. de dinaphtolméthane, 0,1 cc. de soude N/10 et 0,3 cc. d'eau. Une goutte d'acide chlorhydrique normal portée dans la solution bouillante donne un trouble disparaissant à l'ébullition. Par refroidissement, il se dépose de longues et fines aiguilles cristallines.

Le même résultat peut être obtenu par dissolution de dinaphtolméthane dans le benzène bouillant et volatilisation ultérieure du solvant. Le dinaphtolméthane fondant en se décomposant à 191-195° (bloc Maquenne), il convient de confirmer cette épreuve d'authenticité du dinaphtolméthane par l'un des essais suivants.

2. *Transformation en acétate de dinaphtolméthane.* Quelques milligrammes de dinaphtolméthane sont traités par 0 cc. 5 d'anhydride acétique à l'ébullition pendant une heure, dans un tube à essai muni d'un long tube réfrigérant. La solution refroidie laisse déposer des cristaux (longues aiguilles fines) qui, lavés à l'acide acétique et séchés à l'air, montrent un point de fusion de 214° au bloc Maquenne. Le rendement de cette opération est d'environ 50 %.

3. *Transformation en dinaphtopyrane et en sels de pyryle. a*) Dans un tube à essais contenant quelques milligrammes (5 mg.) de dinaphtolméthane placé dans un bain-marie bouillant, on fait tomber 11 gouttes d'oxychlorure de phosphore. Après deux minutes, on triture avec de l'eau et de la soude, à chaud, l'huile rouge obtenue. On lave et on sèche le résidu gris, puis on dissout celui-ci dans 2 cc. de benzène chaud. On laisse évaporer une goutte de solution benzénique sur une lame porte-objet, puis on expose à des vapeurs de brome cette trace de substance. Un faible enduit rouge apparaît aussitôt, formé de prismes rouges enchevêtrés, microscopiques, de tribromure de dinaphtopyryle.

b) Le précipité de dinaphtolméthane est dissous dans l'acide formique concentré à l'ébullition au reflux. Après 30 minutes de chauffage, par l'action de l'eau puis de la soude jusqu'à alcalinisation on isole le dinaphtopyrane, produit résineux fusible à 201°. On dissout celui-ci dans un peu de chloroforme.

Si à cette solution chloroformique on ajoute une goutte de brome, il se produit un précipité rouge cristallin de tribromure de dinaphtopyryle que l'on peut soumettre à la microanalyse après lavage au chloroforme bouillant et séchage à 100°. Ce tribromure peut à son tour être transformé en chlorure double d'or et de dinaphtopyryle.

A cet effet on chauffe à l'ébullition, pendant 5 minutes, le tribromure avec de l'acide chlorhydrique concentré ; on dilue avec de l'eau, on refroidit et on filtre. Le tribromure se décompose en brome et monobromure de dinaphtopyryle

$$HC\begin{cases}C^{10}H^{6}\\C^{10}H^{6}\end{cases}O\ Br$$

et celui-ci, par double décomposition, fournit de l'acide bromhydrique et du chlorure de dinaphtopyryle d'après l'équation :

$$HC\begin{cases}C^{10}H^{6}\\C^{10}H^{6}\end{cases}O\ Br + HCl = HC\begin{cases}C^{10}H^{6}\\C^{10}H^{6}\end{cases}OCl + HBr.$$

L'addition à la liqueur de chlorure d'or chlorhydrique précipite le chlorure double d'or et de dinaphtopyryle

$$HC \begin{matrix} \diagup C^{10}H^6 \diagdown \\ \overline{} \\ \diagdown C^{10}H^6 \diagup \end{matrix} OCl + Au\,Cl^3$$

magnifique précipité rouge minium qui, lavé à l'eau chlorhydrique puis au benzène bouillant et séché à 100° (620), présente un poids moléculaire considérable, et peut être facilement analysé.

La solution chloroformique de dinaphtopyrane peut aussi être traitée par l'anhydride acétique à l'ébullition pendant une heure. La solution, violet foncé, est décomposée par l'eau. La masse pâteuse obtenue séchée parfaitement et reprise par le benzène bouillant laisse déposer par refroidissement un corps cristallisé fondant entre 192-194°. Ce corps est un dérivé acétique du dinaphtopyrane qui répond à la formule [1]

$$HC \begin{matrix} \diagup C^{10}H^6 \diagdown \\ \overline{} \\ \diagdown C^{10}H^6 \diagup \end{matrix} O.\,C^2H^3O^2$$ [1]

Le procédé au β-naphtol permet donc d'identifier l'aldéhyde formique avec une certitude absolue. Le dosage lui-même est rapide : sa durée n'excède pas deux heures trente minutes.

Dans les applications et adaptations que nous avons faites de cette précieuse méthode, nous avons généralement utilisé, comme moyen d'identification du dinaphtolméthane, l'acétylation par l'anhydride acétique et la détermination du point de fusion du corps obtenu (F : 214°) au bloc Maquenne.

Lorsque, par suite de la rareté de l'aldéhyde formique, la quantité d'acétate obtenu était faible, nous mélangions celui-ci avec de l'acétate pur et nous déterminions le point de fusion du mélange. Toute variation de ce point de fusion de plus d'un degré permettait de considérer l'acétate étudié comme ne contenant pas de dinaphtolméthane.

L'identification était faite pour chaque série de dosages. Dans quelques cas seulement, le procédé à l'oxychlorure de phosphore fut appliqué.

1. Fosse (R.). *Ann. Chim. et Phys.*, 1904, t. IX, p. 270.

CHAPITRE II

L'ALDÉHYDE FORMIQUE DANS LES PLANTES

La question de l'existence de l'aldéhyde formique dans les plantes vertes préoccupe les physiologistes depuis plus de soixante ans.

Que se passe-t-il à l'intérieur de la cellule chlorophyllienne ? L'analyse apprend que dès qu'une feuille verte est exposée à la lumière, elle s'enrichit en glucides, particulièrement en hexoses et polyhexoses de la forme $(C^6H^{10}O^5)^nH^2O$ dont le terme le plus simple pour n égal 1 est le glucose ou ses isomères, et les termes supérieurs, pour les hautes valeurs de n, sont les corps amylacés et la cellulose. Dans la feuille, l'anhydride carbonique se transforme donc en glucides, mais par quel mécanisme ?

Plusieurs hypothèses ont été proposées. Elles peuvent être classées en deux catégories. Dans la première se rangent celles qui admettent l'origine purement minérale des sucres de la feuille et ne font contribuer à leur synthèse que les éléments de l'anhydride carbonique et de l'eau. Dans la seconde se placent les hypothèses qui expliquent cette formation par une élaboration protoplasmique à laquelle prendraient part non seulement le carbone et les éléments de l'eau mais aussi toutes les matières nutritives utilisées par les racines. Nous ne retiendrons ici que les premières dont la plus ancienne est due à Boussingault [1].

Ayant remarqué, après Th. de Saussure, que les plantes n'ont pas d'action sur l'oxyde de carbone, Boussingault supposait que, sous l'action de la lumière, la cellule à chlorophylle décompose simultanément une molécule d'eau et une molécule de gaz carbonique, celle-ci seulement à moitié.

Dans cette hypothèse, il se dégage un volume d'oxygène égal à celui du gaz carbonique dissocié

$$CO^2 = CO + O \rightarrow \qquad H^2O = H^2 + O$$

(ce qui est conforme à la valeur trouvée expérimentalement du quotient chlorophyllien) et les deux résidus, oxyde de carbone et hydrogène, mis en liberté à molécules égales s'unissent et se polymérisent pour former un hexose.

Berthelot appuie bientôt cette manière de voir.

1. Boussingault. *Economie rurale*, p. 83. *Agronomie*, t. IV, p. 301.

Peu après la découverte de l'aldéhyde formique par Hoffmann (1868), Baeyer (1870) fait intervenir le rôle de ce corps[1]. Simplifiant la théorie de Boussingault, il admet que l'action chlorophyllienne porte non pas sur l'anhydride carbonique mais sur l'acide carbonique lui-même.

Celui-ci se décompose en une molécule d'oxygène qui se dégage et une molécule d'aldéhyde formique qui, en se polymérisant, donne ensuite naissance à tous les hydrates de carbone.

$$CO\begin{matrix}\diagup OH \\ \diagdown OH\end{matrix} = HCHO + O^2.$$

Bach (1893) et Chodat (1911)[2] pensent que l'acide carbonique se dédouble dans la cellule verte en aldéhyde formique et un corps suroxydé qui pourrait être un acide percarbonique, CO^4H^2, ou de l'acide performique isomère de l'acide carbonique.

$$3\,CO^3H^2 = 2\,CO^4H^2 + HCHO$$

Chodat et Schweitzer admettent en outre une production simultanée de peroxyde d'hydrogène.

$$3\,CO^3H^2 = 2\,CO^4H^2 + HCHO$$
$$2\,CO^4H^2 = 2\,CO^2 + 2\,H^2O^2$$
$$2\,CO^2 + 2\,H^2O^2 = 2\,CO^3H^2 + O^2$$

Admettant également l'intervention de l'aldéhyde formique, Willstätter et Stoll confèrent à la chlorophylle le rôle de catalyseur chimique. Celle-ci est le mélange de deux matières colorantes définies : la chlorophylle A (vert bleu) et la chlorophylle B (vert jaune), complexes magnésiens triacides[3] existant à l'état colloïdal dans le substratum des chloroplastes, dont la molécule peut être schématisée ainsi

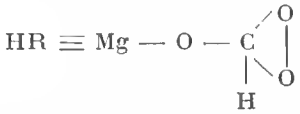
$$R \equiv Mg$$

L'anhydride carbonique donnerait, en présence de l'eau, un produit d'addition :

$$HR \equiv Mg - O - C\begin{matrix}\diagup\!\!\diagup O \\ \diagdown OH\end{matrix}$$

1. Berthelot (M.). *Leçons sur les méthodes générales de synthèse en chimie organique.* Paris, Gauthier-Villars, 1864. — Baeyer (A.). *Ber. deuts. chem. Ges.*, 1870, t. III, p. 68.
2. Cités par Maquenne (P.). *Bull. Soc. chim.*, 1924, t. XXXV, p. 649.
3. La chlorophylle A a pour formule $C^{55}H^{72}O^5N^4Mg$. La chlorophylle B s'en distingue par la substitution d'un atome d'oxygène à deux d'hydrogène ; sa formule est $C^{55}H^{70}O$, N^4Mg.

Sous l'action photochimique de la lumière, ce composé dissociable aurait ses valences remaniées et se transformerait en un isomère peroxydé :



Cet isomère instable laisserait alors dégager une molécule d'oxygène puis se dissocierait, régénérant la molécule de chlorophylle et libérant l'aldéhyde formique

$$R \equiv Mg + H.CHO + O^2$$

Bien différente est la théorie de Wurmser dérivée de celle de Blackman (1920). Celui-ci a attiré l'attention sur le rôle du protoplasme [1]. Ayant observé que le coefficient de température de l'assimilation chlorophyllienne n'est pas celui d'une réaction photochimique mais d'une réaction sombre, il considère cette assimilation comme une suite de processus : les uns photochimiques dont la vitesse dépend du rayonnement incident, du pouvoir absorbant de la chlorophylle, de la fréquence du rayonnement et faiblement de la température, les autres obscurs (réaction de Blackman) dont la vitesse dépend de la température, de l'état du protoplasme incolore, et de la teneur en anhydride carbonique du milieu extérieur. Acceptant cette thèse, Wurmser suppose l'existence d'un métabolisme adjuvant portant sur l'eau.

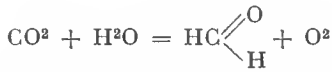
Celle-ci serait décomposée dans le chloroplaste avec absorption d'une certaine quantité d'énergie (réaction endothermique)

$$2\ H^2O = 2\ H^2 + O^2.$$

Le produit diffuserait alors dans le stroma incolore des chloroplastes et, au cours d'une seconde réaction, l'hydrogène serait oxydé en régénérant de l'eau et en libérant de l'énergie.

$$2\ H^2 + O^2 = 2\ H^2O$$

ce qui rendrait alors possible une troisième réaction : la réduction du gaz carbonique en présence d'eau avec formation d'aldéhyde formique et libération d'oxygène.



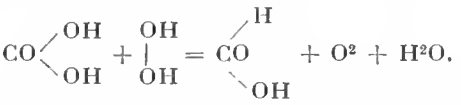
Suivrait alors la polymérisation.

Il s'agirait donc d'un phénomène d'*oxydo-réduction* dans lequel l'énergie

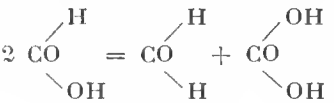
1. Blackman (E.). *Soc. Roy. Lond.*, 1920. — Wurmser (R.). *Oxydations et réductions*, Paris, Presses universitaires, 1930, p. 39 et suivantes. — Guilliermond (A.), Mangenot (G.), Plantefol (L.). *Traité de cytologie végétale*, Paris. Le François, 1933, p. 460.

nécessitée par la réduction du gaz carbonique serait empruntée à l'énergie libérée en quantité légèrement supérieure au cours de l'oxydation précédente.

Signalons enfin que pour Rupp et Schlee[1], l'aldéhyde formique ne serait qu'un produit de décomposition de l'acide formique, celui-ci devant être considéré comme le premier produit de la réduction de l'acide carbonique. Les auteurs font intervenir le peroxyde d'hydrogène



La production de l'aldéhyde formique résulterait d'une réaction de Cannizaro transformant l'acide formique en acide carbonique et aldéhyde formique



Telles sont les théories qui confèrent à l'aldéhyde formique le rôle d'intermédiaire dans la synthèse végétale des glucides. On conçoit l'importance que peut avoir pour leur confirmation une démonstration incontestable de la présence de ce corps dans les feuilles vertes.

L'aldéhyde formique existe-t-il dans les feuilles vertes ?

Par l'analyse, par l'expérimentation, de nombreux savants se sont efforcés de répondre à la question. Les uns ont affirmé l'existence du formol, d'autres l'ont contestée. Examinons ces diverses opinions.

Première thèse : *L'aldéhyde formique existe dans les feuilles.*

Reinke (1881), se basant sur la réduction de la liqueur de Fehling [2] et du nitrate d'argent ammoniacal, le signale dans les sucs de feuilles de vigne, de peuplier et de saule.

Polacci (1900) utilisant la fuchsine bisulfitée, trouve l'adéhyde dans les feuilles récemment insolées [3].

Les mêmes résultats sont obtenus par Angelico et Catalano (1913) dans onze plantes au moyen d'un réactif découvert par eux, l'atractyline, glucoside de l'*Atractylis* dissous dans l'acide sulfurique [4].

1. Rupp (E.), Schlee (H.). *Bioch. Zeits.*, 1926, t. CLXXII, p. 373.
2. Reinke (F.). *Ber. deuts. chem. Ges.*, 1881, t. XIV, p. 2144.
3. Polacci (D.). *Ann. agron.*, 1901, t. XXVII, p. 148.
4. Angelico (F.), Catalano (G.). *Bull. Soc. chim.*, 1913, t. XIV, p. 716.

Kimpflin (1907) trouve l'aldéhyde formique dans les feuilles d'agave en les injectant, après insolation, avec une solution de bisulfite de soude additionnée de méthylparaminométacrésol [1].

Usher et Priestley (1906) le voient apparaître dans des feuilles d'*Elodea* tuées par l'eau bouillante et ensuite exposées au soleil dans une solution de gaz carbonique.

Grafe le décèle au moyen de la diphénylamine [2].

Gentil, utilisant la réaction de Farsteiner, la réduction du nitrate d'argent alcalin, la réaction de l'hydrol en trouve dans la feuille de betterave et dans la racine même [3]. Au moyen de la méthode à l'oxyde d'argent il trouve 5,1 à 5,6 milligr. d'aldéhyde par kilog. dans les feuilles et 3,5 à 5,0 millig. par kilog. dans les racines.

Schryver, avec un réactif très sensible (chlorhydrate de phénylhydrazine, ferricyanure de potassium, acide chlorhydrique), trouve le formaldéhyde dans l'herbe et de nombreuses plantes insolées durant plusieurs heures.

Après quelques jours, la solution de chlorophylle ne donne plus la réaction [4]. Schryver pense que la chlorophylle renferme l'aldéhyde formique sous la forme d'une combinaison assez stable, qui ne subit en présence d'eau qu'une faible hydrolyse. L'équilibre se maintient en présence d'une trace de formaldéhyde libre.

Rimini [5] trouve l'aldéhyde formique avec le chlorhydrate de phénylhydrazine et le nitroprussiate de soude, Gibson au moyen d'acide gallique et d'acide sulfurique.

Klein et Werner captent le formaldéhyde par culture de la plante dans un milieu contenant de la diméthylhydrorésorcine et obtiennent un dérivé cristallisé identifié par son point de fusion et son aspect microscopique [6].

Enfin Curtius et Franzen [7] opérant sur les feuilles de charme, paraissent démontrer d'une façon définitive la présence du formol au cours d'une recherche en quelque sorte industrielle que nous croyons utile de décrire.

Quinze cents kilogrammes de feuilles, mélangées avec un égal volume d'eau, sont soumis à une distillation à la vapeur d'eau, jusqu'à ce que le distillat ne possède plus de propriétés réductrices. Le distillat, faiblement acide, est alcalinisé avec l'eau de baryte puis redistillé. Les acides volatils restent à l'état de sels de baryum dans le résidu de distillation.

Le distillat est agité avec de l'oxyde d'argent fraîchement précipité qui transforme les aldéhydes en acides correspondants. Après oxydation complète, on

1. Kimpflin. Cité par Maquenne (L.). *Précis de physiologie végétale*, Paris, Payot, 1927, p. 154.
2. Grafe (F.). Cité par Czapek. *Biochemie der Pflanzen*, Iéna, Fischer, 1922, t. I, p. 623.
3. Gentil (L.). *Bull. Assoc. chim. Sucrerie*, 1909, t. XXVII, p. 169.
4. Schryver (S. B.). *Proc. roy. Soc. London B.*, 1910, t. LXXXII, p. 226.
5. Rimini (B). *Chem. Zentrabl.*, 1898, t. I, p. 1152.
6. Klein (G.), Werner (O.). *Bioch. Zeits.*, 1926, t. CLXVIII, p. 361.
7. Curtius (B.). Franzen, (A.). *Ber. deuts. Chem. Ges.*, 1912, t. XLV, p. 1716.

ajoute de l'eau de baryte. L'argent est précipité et les acides transformés en leurs sels de baryum. On filtre. Le filtrat est alors distillé pour séparer les alcools et cétones obtenus. Dans le résidu de distillation se trouvent les acides correspondant aux aldéhydes primitifs comme sels de baryum.

La solution de ceux-ci est évaporée à siccité.

Curtius et Franzen effectuent alors leur recherche sur vingt grammes des sels de baryum ainsi obtenus.

A cet effet, ceux-ci repris par un peu d'eau sont distillés en présence d'acide phosphorique. Le distillat est épuisé par l'éther. La solution aqueuse dans laquelle se trouve l'acide formique est neutralisée par la soude et évaporée au bain-marie. Le sel de sodium de l'acide formique est alors caractérisé par les réactions suivantes : obtention d'un sel d'argent incolore qui noircit à la chaleur, transformation du chlorure mercurique en calomel, formation d'oxyde de carbone avec l'acide sulfurique. Le dosage est opéré par réduction du chlorure mercurique [1]. Suivant ce mode opératoire, Curtius et Franzen évaluent la quantité d'aldéhyde formique à 0,8 milligr. par kilogramme de feuilles de charme.

A ces preuves analytiques, les physiologistes ajoutent des *preuves expérimentales.*

L'action du formol comme *aliment* est d'abord étudiée. G. et G. Nicolas [2] font croître le haricot dans une solution nutritive de Knop contenant de l'aldéhyde formique (125 milligr. par litre) ou de l'hexaméthylènetétramine, et constatent que la plante accuse un excédent de poids par rapport au témoin. La signification et l'amylogénèse paraissent activées. Mais cette action favorable ne s'exerce qu'à partir du moment où la chlorophylle se trouve dans la plante en quantité suffisante. Sinon l'aldéhyde formique a un effet toxique.

Bodnar, E. Roth et C. Bernauer[3] observent que la teneur en sucre de feuilles de *Tropœolum* soumises à une atmosphère formolée est plus élevée que celle des feuilles au début de l'expérience et que la teneur des feuilles témoins. D'après ces auteurs la transformation en sucre de l'aldéhyde formique serait due à une enzyme.

Sabalitschka, expérimentant avec la même plante, avait déjà constaté la présence du formol dans les feuilles et les fleurs soumises à une atmosphère formolée [4].

Bokorny, utilisant le méthylal qui se dédouble facilement en alcool méthylique et aldéhyde formique, puis l'oxyméthylsulfite de sodium que l'eau dédouble, à une température peu élevée, en aldéhyde formique et sulfite acide de sodium, montre que, en l'absence de gaz carbonique, mais à la lumière, l'*Elodea*, le *Spirogyr.* peuvent former de l'amidon.

1. Franzen (H.) et Egger (F.). *Journ. f. prakt-Chem.*, 1911, t. LXXXIII, p. 323.
2. Nicolas (G. et G.). *C. R. Ac. Sc.*, 1922, t. CLXXV, p. 1437 ; 1923, t. CLXXVI, p. 405.
3. Bodnar (J.), Roth (Ed.) et Bernauer (Cl.). *Bioch. Zeits.*, 1927, t. CL, p. 304-405.
4. Sabalitschka (A.). *Bioch. Zeits.*, 1924, t. CXLV, p. 373.

Le même auteur faisant vivre les plantes dans des atmosphères contenant jusqu'à 1,3 % de formol, constate une augmentation de récolte et un accroissement des sucres réducteurs [1].

Le *rôle toxique* du formol préoccupe ensuite les expérimentateurs. Sans doute Bose a montré qu'une solution d'aldéhyde formique agit comme poison sur diverses activités de la plante : qu'elle arrête les pulsations rythmiques de la feuille de *Desmodium* et qu'une application sur une racine ou la partie coupée d'une tige arrête définitivement l'ascension de la sève [2]. Mais le même auteur ne démontre-t-il pas aussi qu'à dose très faible l'aldéhyde, loin d'être toxique, augmente l'activité de l'assimilation [3]. Une solution d'une partie d'aldéhyde pour dix billions de parties d'eau détermine une augmentation d'activité de 40 % et une solution d'une partie pour un billion augmente cette activité du double.

Effets opposés de la dose faible ou forte qui ne sont pas rares en physiologie.

Enfin les phénomènes de *photolyse* retiennent l'attention. Sehryver expérimente sur des films à base de chlorophylle, préparés en évaporant une solution éthérée de ce corps sur des bandes de gaze et montre que l'aldhéhyde formique se produit à la lumière solaire en présence ou en l'absence de gaz carbonique et, dans le dernier cas, en très petite quantité seulement.

Il conclut que, à la lumière, il se fait vraisemblablement une synthèse continuelle de l'aldéhyde et une condensation continue en sucres, sans que l'aldéhyde s'accumule en proportions toxiques.

D'autre part Baly [4] réussit à préparer de grandes quantités de sucres réducteurs et de pentoses en exposant des solutions aqueuses d'aldéhyde formique, en présence de carbonate de calcium, aux radiations d'une lampe à mercure en quartz. Ce qui prouve que la photolyse de l'aldéhyde formique fournit des produits analogues à ceux qui prennent naissance dans les plantes. Baly pense que la chlorophylle intervient comme sensibilisateur optique au même titre que le carbonate de calcium dans les expériences *in vitro*.

Deuxième thèse : *L'aldéhyde formique n'existe pas dans les feuilles.*

En face des savants qui appuient de leurs observations l'hypothèse de Boussingault-Baeyer ou ses variantes, certains essaient de prouver que l'aldéhyde formique n'existe pas dans les feuilles vertes, on assignent seulement à ce corps une origine accidentelle.

Reinke puis Curtius, en 1897, reconnaissent avoir traité comme aldéhyde

1. Bokorny. Cité par Molliard (M.). *Nutrition de la plante*. T. II. *Formation des substances ternaires*, Paris, Doin, 1921, p. 215.
2. Bose (Jagadis Chunder). *La physiologie de la photosynthèse*, trad. J. et L. Dufrenoy, Paris, Gauthier-Villars, 1927, p. 72.
3. Bose. *Loc. cit.*, p. 79.
4. Baly (E.-C.). *Nature*, 1928, t. CXXII, p. 207. — Houben (J.), Frocher (W.). *Chem. Zentr.*, 1928, t. I, p. 2486.

formique un autre aldéhyde très répandu dont Curtius et Franzen, en 1912, éclaircissent la nature : le α-β hexylènealdéhyde.

$$CH^3 — CH^2 — CH^2 — CH = CH — CHO$$

qu'ils retirent notamment des feuilles de châtaignier, de vigne, de fougère femelle, d'aune, d'érable, de chêne, de lupin, de trèfle, de framboisier, de noisetier et de noyer et qui proviendrait de la réduction du glucose ou d'un autre hexose [1].

Ce sont les résultats de Polacci qui, en 1904, se trouvent démentis par Plancher et Ravenna [2].

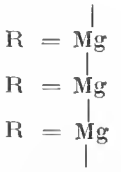
Nicloux recherche l'aldéhyde formique dans les feuilles de fusain et d'aucuba et ne le trouve point [3].

Résultats qui viennent à l'appui des théories sur la formation des sucres, dans lesquelles l'aldéhyde formique est un rouage inutile.

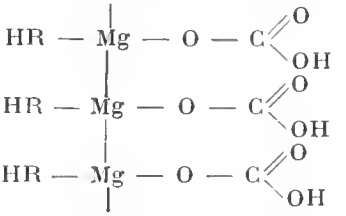
La théorie de Maquenne est la plus caractéristique [4].

Cet auteur considère la chlorophylle colloïdale du chloroplaste composée, comme tous les colloïdes, d'agrégats de molécules simples, unies les unes aux autres par des affinités lâches assimilables à des valences supplémentaires. Il suppose que ces valences sont fournies par le magnésium devenu tétravalent comme l'ont admis Willstatter et Stoll.

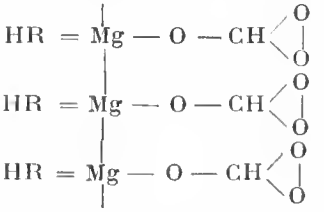
Soit l'un de ces agrégats



Si l'on soumet cette trichlorophylle à l'action de l'anhydride carbonique et de la lumière, on la voit prendre successivement la forme carbonatée

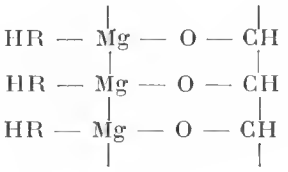


et la forme oxydrique

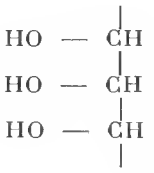


1. Curtius (D.), Franzen (B.). *Liebigs Ann. Chem.*, 1912, t. CCCXC, p. 89.
2. Cités par Maquenne (L.). *Bull. Soc. chim.*, 1924, t. XXXV, p. 659.
3. Nicloux (M.). 1913. *Loc. cit.*, p. 937.
4. Maquenne (L.). *Loc. cit.*, p. 660, 661, 662.

Le départ d'oxygène ayant pour conséqucnce de libérer deux valences par atome de carbone, chacun d'eux en profite pour s'unir à ses voisins et il se forme une chaîne carbonée parallèle à celle du magnésium qui renferme autant d'atomes de carbone que la chlorophylle colloïdale contenait d'atomes de métal :



Le composé nouveau, spontanément ou sous l'influence de l'acide carbonique environnant, régénère la chlorophylle colloïdale, libre ou carbonatée, et laisse un résidu



qui n'est autre chose qu'un sucre.

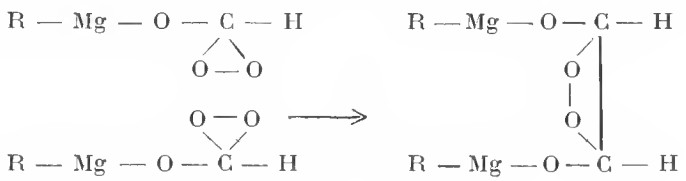
D'après Maquenne, si l'on représente la chlorophylle par le symbole Ch, le processus de l'assimilation du carbone s'accomplirait donc conformément à l'équation très simple :

$$Ch^n + n\,(CO^3H^2) = (ChCO^3H^2)^n = Ch^n + C^nH^{2n}O^n + CO^2$$

dans laquelle n peut prendre toutes les valeurs possibles supérieures à 1 [1].

Cette théorie permettrait de comprendre comment la production des glucides se produit d'emblée dans le chloroplaste.

Un peu semblable est l'hypothèse de Rouge qui considère l'aldéhyde glycolique comme première étape de la synthèse des glucides par suite de l'accouplement de deux molécules de forme peroxydique de la chlorophylle carbonatée [1].



1. D'après Wattiez et Sternon. *Loc. cit.*, p. 248.

La scission de ce complexe régénérerait la chlorophylle, libérant O^2 et formant l'aldéhyde glycolique qui, secondairement, s'aldoliserait en glucose (Polonovski).

Enfin Emschwiller [1] montre que la synthèse des oses au scin de la plante s'interprète aisément par l'hypothèse de la formation transitoire du groupement oxyméthylène. — CHOH. qui se transformerait ensuite par condensations successives. « Ce groupement pouvant être identique à la forme active de l'aldéhyde formique et non pas nécessairement comme on l'a admis longtemps à l'aldéhyde formique même. »

Tel est l'état actuel de la question. Aucune des théories que nous venons de citer ne donne une image complète du phénomène chlorophyllien que l'on a d'ailleurs vainement cherché à reproduire *in vitro*.

Cette ignorance est due pour une bonne part aux difficultés qu'ont rencontrées les physiologistes dans la recherche et le dosage de l'aldéhyde formique.

Difficultés de la recherche de l'aldéhyde formique dans les feuilles vertes.

Ces difficultés sont de plusieurs ordres :

1° Les quantités à rechercher et à doser sont très petites.

2° Peu de réactifs sont spécifiques.

3° La cellule végétale est extrêmement sensible aux réactifs employés.

4° L'aldéhyde formique peut se produire au cours du traitement utilisé pour la recherche.

1. *Les quantités à rechercher sont très petites.*

L'aldéhyde formique, même à la dose de un cinquante millième, est un violent poison pour les cellules. Il ne peut donc exister dans les plantes (feuilles) qu'en très faibles quantités : le cent millième environ d'après Bokorny [2].

La recherche et le dosage nécessitent soit l'emploi d'un réactif très sensible, soit la mise en œuvre de grandes quantités de matière végétale. Au dernier point de vue, la méthode utilisée par Curtius et Franzen pour rechercher et doser le formol dans les feuilles de charme est un modèle du genre, inapplicable d'ailleurs dans la plupart des cas.

2. *Peu de réactifs sont spécifiques.*

Ceci résulte de l'examen que nous avons fait des diverses méthodes de recherche (chapitre premier). Parmi les réactifs utilisés, qu'il s'agisse des réactions de coloration ou des réactions d'oxydation, aucun n'est exempt de reproches.

1. Emschwiller (G.). *Loc. cit.*
2. Bokorny (Th.). *Chem. Zeit.*, 1909, t. XXXIII, p. 1141 et 1150.

Ces agents réagissent non seulement avec l'aldéhyde formique, mais avec d'autres aldéhydes, voire des cétones.

Nous ne citerons qu'un cas : celui du réactif de Schryver considéré comme spécifique du formol.

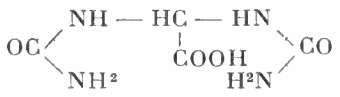
Ce réactif est influencé à la fois par l'aldéhyde éthylique [1], le glucose, l'acide glyoxylique.

L'aldéhyde éthylique (acétaldéhyde) et le glucose sont abondamment répandus chez les végétaux.

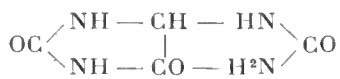
Quant à l'acide glyoxylique CHO — COOH il existe normalement dans les fruits verts (raisin, groseille à maquereaux, pomme, cornouille) [2].

D'autre part, il peut aussi résulter du dédoublement à froid [3] ou sous l'action de la vapeur d'eau de deux diuréides :

l'acide allantoïque



et l'allantoïne



qui existent dans les feuilles de plusieurs plantes (érable, haricot, noisetier), comme l'ont notamment constaté Fosse, Hieulle, Brunel, Leroux [4].

Quant aux méthodes de précipitation, par suite de leur exécution lente et surtout de leur faible sensibilité, elles n'ont été jusqu'à présent que peu ou point utilisées.

3. *La cellule végétale est très sensible.*

La cellule est très sensible à l'action des agents chimiques aussi bien qu'à celle de la chaleur.

Dans le cas présent, tous les réactifs mettant en œuvre l'action d'un acide la tuent radicalement. Il en est de même de quelques autres composés : bisulfite de soude, méthyl p-amido-m-crésol, sels mercureux. D'autres, comme la diméthylhydrorésorcine, provoquent seulement sa narcose [5].

Quant à la chaleur, combinée avec l'action de l'eau dans la distillation, elle fait éclater les parois de la cellule.

Cette sensibilité extrême explique pourquoi l'aldéhyde formique n'a jamais pu être mis en évidence à l'intérieur de la cellule *vivante* [6].

1. Simonnet (C.). *Rec. Méd. vétér.*, 1920, t. XCVI, p. 69.
2. Euler (H.). *Pflanzenchemie*. Brunswick, 1908, t. I, p. 15. — Wehmer (C.). *Die Pflanzenstoffe*. Iena, Fischer, 1931, p. 903.
3. Simon (L.-J.). *C. R. Ac. Sc.*, 1904, t. CXXXVIII, p. 426.
4. Fosse (R.), Hieulle (A.). *C. R. Ac. Sc.*, 1924, t. CLXXIX, p. 637. — Fosse (R.). *L'urée*, loc. cit., p. 185. — Fosse (R.). *C. R. Ac. Sc.*, 1926, t. CLXXXII, p. 175 et 869, et t. CLXXXIII, p. 1114. — Fosse (R.), Brunel (A.). *C. R. Ac. Sc.*, 1931, t. CXCIII, p. 7. — Leroux (L.). *C. R. Ac. Sc.*, 1937, t. CCV, p. 172.
5. Klein (G.), Werner (O.). *Bioch. Zeits.*, 1926, t. CLXVIII, p. 361.
6. Wattiez-Sternon. *Loc. cit.*, p. 256.

4. *L'aldéhyde formique peut-il se produire au cours du traitement en vue de la recherche ?*

La présence de l'aldéhyde formique serait-elle parfaitement établie, une grave objection se présente : ce corps peut-il se produire au cours du traitement qu'on fait subir à l'organe végétal ?

Le procédé classique de recherche consiste à distiller les feuilles avec de l'eau et à examiner le liquide distillé [1].

Or nous avons vu que, pendant cette opération, il se produit un éclatement des cellules. Il y a en outre oxydation partielle et nul ne peut affirmer qu'il ne se produit pas d'aldéhyde formique aux dépens de substances comme le glucose, le saccharose, la glycérine, la mannite, le glycocolle, l'acide acétique [2]. Curtius et Franzen, eux-mêmes, ont signalé dans le liquide de distillation des feuilles de charme, outre la présence de l'aldéhyde formique, celle d'aldéhydes acétique, butyrique, valérianique, hexylénique, nonylénique, ainsi que d'acides volatils et d'alcools incomplets, sans démontrer que tous ces corps préexistaient dans la plante vivante [3].

D'autre part, Warner [4] puis Baur [5] ont établi que l'aldéhyde formique pouvait être un produit d'oxydation des extraits chlorophylliens. Il n'est pas impossible qu'au cours de la distillation pour séparer les substances réductrices non volatiles, cet aldéhyde se produise par mort des grains de chlorophylle. Jorgensen et Kidd ont observé des faits du même ordre [6]. Quant à Mazé, il n'a jamais pu reconnaître la présence d'aldéhyde formique dans le distillat de plantes vertes préparé à 60° sans pression réduite.

L'hydrolyse d'un certain nombre de substances végétales, notamment des substances ligneuses, peut aussi donner de l'aldéhyde formique [7].

Enfin, on ne saurait oublier que le formaldéhyde se forme également sous l'action de certaines diastases présentes dans les feuilles, par fermentation des glucides [8] ou par destruction d'acides aminés, type glycocolle [9], la chlorophylle pouvant accélérer cette action.

Si, après la récolte, les plantes continuent à vivre pendant un certain temps encore, il n'est pas moins vrai que des réactions (oxydations, réductions, hydrolyses, etc.) s'y poursuivent aux dépens des réserves. Il est donc absolument nécessaire d'effectuer la recherche de l'aldéhyde formique sur des organes frais.

1. Bertrand (G.), Thomas (P.). *Loc. cit.*, p. 440.
2. Fosse (R.). *C. R. Ac. Sc.*, 1936, t. CCII, p. 445.
3. Curtius (Th.), Franzen (H.). *Chem. Zeut.*, 1912, II, p. 722.
4. Warner (K.). *Proc. Roy. Soc.*, Londres, 1914, B. LXXXVII, p. 378.
5. Baur (H.). *Helv. chim. Add.*, 1935, t. XVIII, p. 1157.
6. Cités par Wattiez et Sternon. *Loc. cit.*, p. 443.
7. Freudenberg (K.), Harder (M.). *Ber. deuts. chem. Ges.*, 1927, t. LX, p. 581.
8. Duclaux. *Microbiologie*, Paris, Masson, 1898, t. I, p. 238. — Maurer (K.). *Bioch. Zeits.*, 1926, t. CLXXIII, p. 201.
9. Schweizer (R.). *Bioch. Zeils.*, 1916, t. LXXVIII, p. 37.

Le procédé de recherche et de dosage par le β-naphtol permet-il de vaincre quelques-unes des difficultés que nous venons de signaler ? C'est ce que nous allons voir.

Recherches personnelles.

Le procédé de recherche et de dosage de l'aldéhyde formique au moyen du β-naphtol par sa grande sensibilité et par sa spécificité réduit les deux premières difficultés.

Pour éviter le plus possible les deux autres : sensibilité très grande de la cellule végétale, production accidentelle d'aldéhyde formique, nous avons examiné les plantes aussitôt, ou quelques heures seulement, après la récolte. Nous avons en outre retranché du mode opératoire le chauffage, même à température peu élevée, nécessaire pour la distillation sous pression réduite, afin de ne pas provoquer l'hydrolyse de corps sensibles comme les diuréides et la mise en liberté d'acide glyoxylique entraînable à la vapeur d'eau.

Nous avons travaillé sur des feuilles vertes récoltées dans la période mars-mai.

Dans le cas des petites quantités, la matière était broyée au mortier avec du sable fin calciné et de l'eau distillée. Dans celui de quantités importantes (100 à 200 grammes) la matière était broyée dans un hache viande puis reprise par l'eau distillée.

Le produit était alors passé rapidement à travers une toile. Le liquide verdâtre obtenu, centrifugé, était soumis :

1° à la réaction de Schryver à froid.

2° à la réaction du β-naphtol.

* * *

Fincke [3], ayant signalé que les plantes pouvaient contenir des substances dissimulatrices de l'aldéhyde formique, nous avons d'abord cherché si ce corps ajouté en quantité déterminée à une plante non susceptible d'en contenir pouvait être retrouvé.

Ce qui nous a permis de définir en même temps la sensibilité du mode opératoire adopté.

Expérience I.

85 grammes de feuilles d'iris sont broyées et mises à macérer pendant 24 heures, à la glacière, dans dix fois leur poids d'eau distillée.

La macération est filtrée. Elle ne donne ni la réaction de Schryver, ni aucun précipité avec le β-naphtol en milieu chlorhydrique, à l'ébullition dans les conditions de concentration décrites au chapitre premier.

1. Fincke (H.). *Bioch. Zeits.*, 1913, t. LII, p. 214.

A 50 cc. de la macération on ajoute 50 cc. d'une solution contenant 8,8 milligr. d'aldéhyde formique. On abandonne pendant *une heure* à la température du laboratoire (20° C.).

On dose le formol restant au moyen du β-naphtol :

Poids de dinaphtolméthane trouvé : 89,0 milligr.

Poids d'aldéhyde formique correspondant : 8,9 milligr.

Expérience II.

A 50 cc. de la macération précédente on ajoute 50 cc. d'une solution contenant 8,5 milligr. d'aldéhyde formique. On abandonne pendant *quarante-huit heures* à la température du laboratoire.

On dose le formol restant.

Poids de dinaphtolméthane trouvé : 83,1 milligr.

Poids d'aldéhyde formique correspondant : 8,31 milligr.

La perte de 3 % accusée par ce dosage correspond aux erreurs d'expérience.

Expérience III.

20 grammes de feuilles de fusain sont broyées avec leur poids de sable fin calciné et deux fois leur poids d'eau.

Le liquide verdâtre passé à travers un linge est centrifugé. Réactions de Schryver et du β-naphtol négatives.

A 10 centimètres cubes de ce liquide on ajoute 100 cc. d'une solution formique diluée. On abandonne pendant *six heures* à la température du laboratoire.

Après ce temps on ajoute 10 % d'acide chlorhydrique concentré. On agite. Après quelques minutes on filtre et l'on dose l'aldéhyde formique dans la solution limpide par addition de β-naphtol et ébullition.

Le précipité de dinaphtolméthane obtenu est coloré par des impuretés. On le dissout dans quelques centimètres cubes de lessive de soude, à 10 gr. par l., puis on reprécipite en acidulant par l'acide chlorhydrique.

Résultats.

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
Témoin	138,5 mg	13,85 mg
Après contact avec le produit du broyage des feuilles de fusain	140,2 mg	14,02 mg

Expérience IV.

La même expérience que précédemment est faite avec le produit du broyage de 50 grammes de feuilles de houx. Réactions de Schryver et du β-naphtol

négatives. Après centrifugation, le liquide trouble provenant du broyage est additionné d'une solution de formol très diluée (0,25 mg. d'aldéhyde formique). On laisse en contact pendant une heure.

On dose le formol restant au moyen du β-naphtol.

Résultats.

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
	—	—
Témoin	2,4 mg	0,24 mg
Après contact avec le produit de broyage des feuilles de houx	2,0 mg	0,20 mg

Ces diverses expériences montrent que l'aldéhyde formique peut être recherché et dosé au moyen du β-naphtol dans la macération ou le suc provenant du broyage des feuilles.

Sensibilité du mode opératoire. — Avec les sucs foliaires, généralement troubles et verdâtres, *la réaction de Schryver,* comme nous avons pu nous en assurer par des expériences témoins faites sur plus de vingt plantes, est encore parfaitement visible (coloration rose) avec une quantité d'aldéhyde formique qui ne dépasse guère 0,01 milligramme dans une prise d'essai correspondant à dix grammes de matière fraîche.

Autrement dit la réaction est nette avec 1 milligramme d'aldéhyde formique par kilogramme de plante fraîche.

Toutefois, avec les liquides visqueux, il est bon d'intervertir l'ordre des réactifs de la manière suivante :

Acide chlorhydrique	au lieu de Chlorhydrate de phénylhydrazine
Chlorhydrate de phénylhydrazinc	Ferricyanure de potassium
Ferricyanure de potassium	Acide chlorhydrique

Quant à la *réaction du β-naphtol,* l'expérience IV, décrite ci-dessus, démontre parmi dix autres résultats du même ordre, le degré de sensibilité et d'exactitude que l'on peut atteindre :

0,25 mmgr. d'aldéhyde formique pour 50 gr. de feuilles fraîches
soit 5,00 mmgr. — — pour 1.000 — —

Avec un poids d'eau correspondant exactement au poids de feuilles broyées (au lieu d'un poids double) et en opérant sur 200 grammes de feuilles fraîches, on peut doser avec précision un poids d'aldéhyde formique de 1,25 milligrammes. Autrement dit, la sensibilité du procédé au β-naphtol atteint le degré de celui de Schryver et permet l'identification sûre du produit sans qu'il soit fait appel à une distillation quelconque.

Recherche de l'aldéhyde formique dans les feuilles vertes.

Pourvus de cette méthode, nous avons recherché systématiquement l'aldéhyde formique dans les feuilles vertes de soixante-cinq plantes appartenant aux espèces les plus variées.

Cet examen comportait deux phases : 1° une sélection des plantes au moyen de la réaction de Schryver à froid ; 2° lorsque cette réaction était positive, nous tentions la précipitation par le β-naphtol.

1. *Application de la réaction de Schryver aux sucs foliaires chlorophylliens.*

Mode opératoire. Dix à vingt grammes de feuilles fraîches sont finement broyées au mortier de grès avec leur poids de sable fin calciné et deux fois leur poids d'eau distillée. La bouillie est pressée dans un linge. Le liquide est centrifugé. Dix centimètre cubes de celui-ci sont additionnés de :

2 cc. solution de chlorhydrate de phénylhydrazine à 1 %.
1 cc. solution de ferricyanure de potassium à 5 % [1].
5 cc. acide chlorhydrique concentré.

La coloration rose ou orangé foncé est considérée comme une réaction positive.

A titre documentaire, la même réaction est opérée sur 10 cc. de liquide préalablement soumis à la température du bain-marie bouillant pendant deux minutes.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau suivant.

Feuilles	Réaction de Schryver (à froid)	Réaction de Schryver (à chaud)
Abricotier (*Prunus ameniaca*)	+ [2]	+
Aster (*Aster sp.*)	(+)	(+)
Aucuba (*Aucuba japonica*)	+	+
Cerisier (*Cerasus vulgaris*)	(+)	(+)
Charme (*Carpinus betulus*)	—	—
Chêne (*Quercus nigra*)	—	—

1. Solutions fraîches datant au plus de quarante-huit heures.
2. Le signe + signifie réaction positive. Le signe (+) signifie réaction positive très légère. Le signe ++ signifie réaction positive très forte. Le signe — signifie réaction négative.

Feuillles	Réaction de Schryver (à froid)	Réaction de Schryver (à chaud)
Chèvrefeuille (*Lonicera caprifolium*)	+	+
Chiendent (*Trilicum repens*)	(+)	(+)
Chou vert (*Brassica vulgaris*)	—	—
Chou de Bruxelles (*Brassica oleracea gemmifera*)	—	—
Cornouiller (*Cornus mas*)	—	—
Cresson de fontaine (*Nasturtium officinale*)	(+)	(+)
Epinard (*Spinacia oleracea*)	—	+
Erable (*Acer pseudo platanus*)	(+)	(+)
Estragon (*Artemisia dracunculus*)	—	—
Fève (*Faba vulgaris*) jeunes plantules	—	—
Fougère mâle (*Polystichum filix mas*)	—	—
Fraisier (*Fragaria vesca*)	—	+
Fusain (*Evonymus curopaeus*)	—	—
Géranium (*Pelargonium pelsalum*)	—	—
Groseillier (*Ribes rubrum*)	—	—
Haricot (*Phaseolus vulgaris*) jeunes plantules	—	—
Houx (*Ilex aquifolium*)	—	—
If (*Taxus communis*)	—	—
Iris (*Iris germanica*)	—	—
Jacinthe des bois (*Scilla nutans*)	—	—
Laitue (*Lactuca vulgaris*)	(+)	(+)
Lavande (*Lavandula officinalis*)	—	—
Laurier-cerise (*Cerasus laurocerasus*)	—	—
Laurier-sauce (*Laurus nobilis*)	—	—
Lentille comestible (*Vicia lens*) jeunes plantules	—	—
Lierre (*Hedera helix*)	(+)	(+)
Lilas (*Syringa vulgaris*)	—	—
Maïs (*Zea mays*) jeunes plantules	—	—
Marronnier à fleurs blanches (*Œsculus indica*)	—	—
Muguet (*Convallaria marabis*)	—	—
Noisetier (*Corylus avellana*)	(+)	(+)
Noyer (*Juglans nigra*)	+	+
Orme (*Ulmus campestris*)	—	—
Ortie (*Urtica dioica*)	(+)	(+)
Ortie rouge (*Lamium purpureum*)	—	+
Oseille (*Rumex acetosa*)	+	+
Pâquerette (*Bellis perennis*)	—	—
Pensée (*Viola tricolor*)	(+)	(+)
Persil (*Petroselinum sativum*)	(+)	(+)
Pissenlit (*Leontodon taraxacum*)	—	—

Feuilles	Réaction de Schryver (à froid)	Réaction de Schryver (à chaud)
Pivoine (*Paeonia officinalis*)	(+)	+
Platane (*Platanus orientalis*)	—	—
Pois (*Pisum sativum*) jeunes plantules	(+)	(+)
— — feuilles	+	+
Pommier (*Pirus communis*)	—	—
Primevère (*Primula officinalis*)	—	—
Prunellier (*Prunus spinosa*)	—	—
Rhododendron (*Rhododendron arboreum*)	++	++
Rhubarbe (*Radix Rhei*)	—	—
Romarin (*Rosmarinus officinalis*)	(+)	(+)
Ronce sauvage (*Rubus frulicosus*)	(+)	+
Rosier (*Rosa polyantha*)	—	+
Rose-trémière (*Althæa rosea*)	—	—
Sainfoin (*Hedysarum communis*)	—	—
Salsifis (*Tragopogon porrifolium*)	—	—
Sureau (*Sambucus nigra*)	—	—
Troène (*Ligustrum communis*)	++	++
Violette (*Viola odorata*)	—	—

2. *Application de la réaction au β-naphtol aux sucs végétaux fournissant à froid la réaction de Schryver.*

Mode opératoire. 100 à 200 grammes de feuilles sont broyées au hache-viande.

La pulpe est reprise par 120 à 240 cc. d'eau distillée. On exprime à la presse à travers une toile jusqu'à obtenir 100 ou 200 cc. selon que la prise d'essai était de 100 ou de 200 grammes. On centrifuge.

Le liquide décanté est acidifié à 10 % avec de l'acide chlorhydrique concentré. On agite. Il se forme un précipité brun verdâtre. Après une demie-heure, on filtre, et le liquide limpide est introduit dans un ballon à col rodé avec 0,003 de β-naphtol.

On fait bouillir au reflux pendant quinze minutes. On laisse refroidir à 60° C. et on maintient à cette température pendant quarante-cinq minutes. Le précipité est lavé à l'eau distillée chaude (60° C.). Il est toujours souillé. On le dissout dans quelques centimètres cubes de soude à 10 gr. par l. On filtre et on lave. Le filtrat est alors additionné d'acide chlorhydrique (10 % environ). Le nouveau précipité est filtré, lavé à l'eau froide, séché à 100° et pesé.

Le précipité est alors soumis aux opérations d'identification du dinaphtolméthane.

La transformation en acétate de dinaphtolméthane suivant le mode décrit au chapitre premier est essayée dans la majorité des cas. La transformation en dinaphtopyrane et sel de dinaphtopyryle (tribromure) est essayée avec les précipités peu importants.

Le tableau suivant rend compte des résultats obtenus.

Feuilles.	Réaction de Schryver à froid.	Réaction avec le β-naphtol sur 100 gr.
Abricotier	+	précipité : 5 mg.
Acer pseudo Platanus	(+)	néant.
Aster	(+)	néant.
Aucuba	+	précipité : 5 mg.
Cerisier	(+)	néant.
Chèvrefeuille	+	précipité : 4 mg.
Chiendent	(+)	néant.
Cresson de fontaine	(+)	néant.
Laitue	(+)	néant.
Lierre	(+)	précipité : 2 mg.
Noisetier	(+)	précipité : 15 mg.
Noyer	+	néant.
Ortie	(+)	néant.
Oseille	+	précipité : 21 mg.
Pensée	(+)	néant.
Persil	(+)	néant.
Pivoine	(+)	néant.
Pois (jeunes plantes)	(+)	néant.
— (feuilles)	+	néant.
Rhododendron	++	précipité : 30 mg.
Romarin	(+)	néant.
Ronce sauvage	(+)	précipité : 4 mg.
Troène	++	précipité : 10 mg.

Dans les cas de l'abricotier, de l'aucuba, du chèvrefeuille, du lierre, du noisetier, de l'oseille, du rhododendron, du troène, le précipité obtenu, incristallisable même après deux reprécipitations, et soumis d'une part à l'action de l'anhydride acétique (formation d'acétate de dinaphtolméthane) et d'autre part à celle de l'oxychlorure de phosphore (formation de dinaphtopyrane) n'a jamais pu être identifié comme dinaphtolméthane.

Dans ces conditions, il est permis d'affirmer que la réaction de Schryver, chez les plantes examinées, ne correspond nullement à la présence d'aldéhyde formique.

CHAPITRE III

L'ALDÉHYDE FORMIQUE DANS LES ALIMENTS CONSERVÉS

L'action des vapeurs de formol sur les tissus organiques a été signalée pour la première fois en 1892 par Berlioz et Trillat [1] au moyen de l'expérience suivante :

Dans un tube allongé, on place des déchets de viande fraîche et on les fait traverser par un courant d'air ayant barbotté dans une solution de formol à cinq pour cent. Ce courant d'air passe, à l'autre extrémité du tube, dans un récipient contenant soit une solution ammoniacale de nitrate d'argent, soit de l'eau d'aniline. On fait passer le courant d'air pendant dix minutes dans le tube et l'on constate que les réactifs ne donnent aucun trouble ni précipité caractérisant la présence de l'aldéhyde formique.

Sous cette influence la surface de la viande durcit, la muqueuse étant en quelque sorte tannée.

Que devient l'aldéhyde formique dans ces conditions ? La question est loin d'être résolue.

L'aldéhyde formique coagule instantanément l'albumine et la gélatine en les transformant (sans changement dans leur apparence extérieure) en des matières infermentescibles insolubles dans l'eau et la plupart des réactifs.

Il s'agit vraisemblablement, comme le pense Lepierre [3], d'un phénomène de condensation et de déshydratation avec fixation de groupes CH^2 et formation d'un dérivé méthylénique, comme sur la plupart des composés organiques azotés.

Une partie de l'aldéhyde formique peut aussi se combiner aux acides aminés dont la fonction amine se trouve ainsi bloquée (Sörensen).

Une fraction peu importante est transformée en acide carbonique et eau par les oxydases [4].

Enfin une partie restée libre finit par disparaître ou se polymériser.

En raison de ces propriétés coagulantes, l'aldéhyde formique est un anti-

1. Berlioz (F.), Trillat (A.). *Journ. Pharm. et Chimie*, 1892, t. XXVII, p. 419.
2. Walter (K.), Berlioz (F.), Trillat (A.). *C. R. Ac. Sc.*, 1892, t. CXV, p. 290.
3. Lepierre (Ch.). *Journ. Pharm. et Chimie*, 1899, t. IX, p. 449.
4. Cervello et Piltini, Batelli et Stern. Cités par Bidault (C.). *Conservation de la viande et du poisson*, Paris, Baillière, 1927, p. 223.

septique puissant. Sous forme de solution à 8 % et, à l'état de vapeurs, il a parfois été utilisé pour le traitement des aliments en vue de leur conservation (lait, viandes, fruits, boissons) [1].

Le grand reproche que l'on fait au formol ainsi ajouté aux aliments est de rendre ceux-ci inassimilables par suite de son action sur les albumines. Toutefois il semble qu'il n'y ait pas lieu d'exagérer cette action. Simonet a montré que la liaison est assez lâche pour que le formol disparaisse en grande partie par ébullition dans l'eau et totalement par rôtissage. L'innocuité des viandes dont la teneur en formol est inférieure à 1 /5000 paraît hors de doute [2]. A ce taux il n'exerce aucun effet empêchant pour les sucs digestifs. Lepierre a d'autre part étudié l'action du formol sur les produits d'hydrolyse des albuminoïdes par les sucs digestifs, et notamment les albumoses et les peptones. Il a pu établir que les produits formés ne sont pas rebelles à toute assimilation car ils sont susceptibles de digestion pepsique normale quoique plus lente que les mêmes albuminoïdes non soumis à l'action du formol.

Au-dessus de 1 /5000, si le mode de cuisson n'intervient pas pour en réduire les effets, la nocivité de la viande traitée par les vapeurs de formol est incontestable. Simonet signale qu'une tranche de viande de cent centimètres carrés et d'une épaisseur de un centimètre renfermerait à l'état cru 20 millig. d'aldéhyde, capables de provoquer des lésions cutanées et chez certains individus à reins fragiles, des troubles urinaires. Mais cette nocivité n'a pu être démontrée avec des viandes recouvertes d'une couche de graisse de plus de un centimètre d'épaisseur.

Quoi qu'il en soit, en France, la pratique de la formolisation des aliments est interdite par la Circulaire ministérielle du 30 septembre 1897 et le Décret du 15 avril 1912.

Cependant, il y a des cas où l'aldéhyde formique peut se trouver normalement dans les aliments par suite de certains traitements (fumaison, saurage) ou de simples réactions chimiques (désamination) déclenchées par la conservation.

Fumaison. La présenee de l'aldéhyde formique dans les fumées a été démon-

1. Le formol contenu dans la viande (bœuf de provenance argentine et traité par le procédé Linley, c'est-à-dire par exposition aux vapeurs de formol à raison de 10 gr. par m³, pendant une heure) permet de conserver celle-ci à l'état réfrigéré pendant trois mois, alors que par la réfrigération simple la durée de la conservation ne dépasse guère trois semaines (Simonet).

Quantités d'aldéhyde formique nécessaires pour obtenir une conservation efficace :

Vins, bières	0,0005 à 0,001 gr. par litre.
Confitures, conserves de tomates	0,01 %.
Viande	0,20 %.
Bouillon	0,040 gr. par litre.

D'après Jablin-Gonnet. *Journ. Pharm. et Chimie*, 1891, t. XXV, p. 453 ; 1892, t. XXVI, p. 387 ; 1897, t. VI, p. 116. Trillat (A.). *Journ. Pharm. et Chimie*, 1892, t. XXVI, p. 135.

2. Simonet (B.). *Rec. Méd. vétér.*, 1920, t. XCVI, p. 62.

trée par Trillat [1], qui a déterminé pour un certain nombre de combustibles la dose dégagée au cours d'une combustion rigoureusement identique.

La fumaison est utilisée depuis l'Antiquité pour la conservation des viandes. Elle consiste à exposer pendant un temps plus ou moins long des quartiers de viande à l'action des fumées. A la suite de ce traitement, les parties superficielles durcissent, se tannent, tandis que l'intérieur prend un goût et une odeur particuliers dus à des vapeurs créosotées et phénolées variant avec le mode de fumaison. L'aldéhyde formique ne pénètre que très peu les viandes soumises aux fumées. S'il est possible de le caractériser dans les viandes fraîchement traitées, dans les autres il se trouve polymérisé et peut échapper à certains procédés de recherche (rosaniline, par exemple). Les doses trouvées varient en général de 0,3 à 2 milligr. d'aldéhyde pour 100 gr. de produit [2]. Elles sont d'autant plus élevées que la fumaison a été plus poussée.

Désamination. Cette hypothèse sur l'origine du formol dans certains aliments, le poisson en particulier, a été émise par Tankard, Bagnali, Lunde, Mathiesen et Reay [3]. Ces auteurs ont trouvé de l'aldéhyde formique dans le poisson frais (hareng, morue, merluche, maquereau) et l'attribuent à la préexistence de triméthylamine. Ce corps ainsi que la diméthylamine, existent normalement, on le sait, dans la saumure de hareng.

Par oxydation, la triméthylamine se décomposerait de la manière suivante

$$2\,(CH^3)^3N + O^2 = 2\,(CH^3)^2NH + 2\,HCHO$$
$$2\,(CH^3)^2NH + O^2 = 2\,CH^3NH^2 + 2\,HCHO$$

Les quantités d'aldéhyde formique trouvées dans les poissons frais sont plus faibles que dans les poissons (hareng) et crustacés (crabe) conservés en boîtes L'ordre de grandeur des quantités trouvées est de 1mg. pour 100 gr. Cette pré-

1. Trillat (A.). *Rev. d'hyg.*, 1905, t. XXVII, p. 147.

Doses d'aldéhyde formique provenant de la combustion de divers combustibles (Foyer à parois en verre).

	en mg. par kg. du poids du combustible.
Bois de sapin	27
Bois de chêne	53
Bois de noyer	39
Bois de châtaignier	30
Papier filtre	20
Pétrole	25
Benzène	8

2. Perrier (G.). *C. R. Ac. Sc.*, 1906, t. CXLIII, p. 602. — Callow (E.-H.). *Analyst*, 1927 p. 391.

Ces auteurs ont trouvé dans le jambon fumé 0,03 à 1,2 mg. d'aldéhyde formique pour 100 gr. et dans la poitrine fumée 0,04 à 0,6 mgr. pour 100 gr.

3. Tankard (A.), Bagnali (J.-F.). *Analyst*, 1926, p. 565. — Lunde (G), Mathiesen (E.). *Ind., Eng. Chem.*, 1934, t. XXVI, p. 974. — Reay (G.). *Analyst*, 1936, p. 78.

sence de l'aldéhyde formique ne peut être imputée ni à une activité bactérienne ni à une réaction entre la chair du poisson et le fer des récipients, ni à une addition frauduleuse. Le vieillissement des conserves n'a aucune influence.

La désamination peut également se faire aux dépens des acides aminés, avec formation d'un aldéhyde et mise en liberté d'ammoniaque et de gaz carbonique.

Les conserves de viande renferment toujours ces acides par suite de l'hydrolyse prolongée que subissent les matières protéiques pendant la cuisson et la stérilisation. Or l'un d'eux, le glycocolle [1], sous l'action d'oxydants (permanganate calcique, électrolyse en milieu alcalin) [2] ou sous l'action de diastases comme la tyrosinase [3], donne de l'aldéhyde formique suivant la réaction :

$$CH^2(NH^2) - COOH + O = HCHO + NH^3 + CO^2$$

Malgré son intérêt biologique, l'étude de ces réactions est peu avancée par suite de l'absence d'une méthode sûre de dosage du formol. Quelles sont en effet les méthodes officiellement reconnues ?

Méthodes officielles utilisées pour la recherche et le dosage de l'aldéhyde formique dans les aliments.

Sauf pour les produits liquides susceptibles d'être décolorés et soumis directement aux réactions de coloration, la recherche de l'aldéhyde formique se fait toujours sur le liquide provenant de la distillation de l'aliment étudié avec de l'eau additionnée d'un acide.

Le procédé Spinette applicable aux viandes, poissons et conserves [4], consiste à distiller la matière broyée avec de l'eau additionnée d'un peu d'acide sulfurique [5] et d'une quantité de sulfate de soude sec et pulvérisé suffisante pour saturer à froid la solution. On opère ensuite sur un volume de distillat représentant environ la moitié du volume mis en jeu.

1. Rappelons que le glycocolle, par exemple $CH^2(NH^2)-COOH$, a été obtenu en 1820 par Braconnot, par hydrolyse de la gélatine.

2. Fosse (R.). *C. R. Ac. Sc.*, 1935, t. CCII, p. 447.

3. Schweizer (K.). *Bloch. Zeits.*, 1916, t. LXXVIII, p. 37.

4. Kling (A.), Robin (L.). *Méthodes actuelles d'expertises employées au Laboratoire municipal*, Paris, Dunod, 1923, t. VI, p. 117 et 119.

5. Ferdinand (Jean). *Journ. Pharm. et Chimie*, 1899, t. IX, p. 404. — Le but de cette addition d'acide est d'éviter la polymérisation du formol au cours de la distillation. Dans le cas des viandes, avec une faible teneur en acide (3 à 5 gouttes d'acide pur dans 50 cc. d'eau) et en ne poussant pas la distillation, il n'y a pas lieu de craindre l'action de l'acide fort sur certains constituants normaux du muscle tels que l'acide lactique qui, dans ces conditions, se transforme à peu près intégralement en éthanol (Simonet, *loc. cit.*, p. 68). Les chimistes anglais préfèrent utiliser l'acide phosphorique. Kohn-Abrest (*loc. cit.*, p. 56) emploie l'acide tartrique dans le cas d'une recherche dans les viscères (0,60 gr. pour 100 gr. d'échantillon).

Les réactions agréées [1] sont les suivantes :

Recherche par la phloroglucine. On fait usage d'une solution de phloroglucine incolore à 1 gr. par litre et d'une solution de soude à 10 % de NaOH pure. On verse dans un tube à essai 5 cc. environ du liquide étudié, 2 à 3 cc. de la solution de phloroglucine. On agite, puis on ajoute 1 à 2 cc. de la solution alcaline.

En présence de formol, il se développe une coloration rose.

Recherche par le phénol. On ajoute au distillat quelques gouttes d'une solution aqueuse très diluée de phénol et on verse de l'acide sulfurique concentré de telle façon que les deux liquides se mélangent aussi peu que possible. En présence de formaldéhyde, il se produit un anneau rouge carmin au contact des deux liquides.

Ces réactions étant communes à divers aldéhydes, on caractérise l'aldéhyde formique par le procédé de Trillat (formation d'hydrol) dont nous avons indiqué le principe (chapitre premier).

Voici le mode opératoire imposé :

On distille 100 cc. de liquide contenant le formol, de manière à obtenir environ 25 cc. de liquide distillé. Celui-ci est additionné d'un demi-centimètre cube de diméthylaniline et de 5 cc. d'acide sulfurique à 1 %, dans un petit flacon que l'on bouche et que l'on place sur un bain-marie à une température d'environ 50 degrés. Après une heure de chauffage, la condensation est terminée : on verse le contenu du flacon dans un ballon d'un demi-litre, on étend à environ 100 cc. et on alcalinise fortement avec 5 cc. de lessive de soude. On relie le ballon d'une part avec un récipient contenant de l'eau et d'autre part avec un réfrigérant incliné ; on chauffe le ballon et on fait passer en même temps un violent courant de vapeur d'eau, de manière à chasser complètement la diméthylaniline, ce que l'on reconnaît lorsqu'il ne passe plus de gouttelettes huileuses (durée du passage de la vapeur, environ 10 minutes).

La base résultant de la combinaison de la diméthylaniline et du formol reste dans le résidu. Il suffit, pour une recherche qualitative, d'aciduler le liquide avec de l'acide acétique, d'en prélever quelques centimètres cubes et d'ajouter une trace de bioxyde de plomb en suspension dans l'eau (2 à 3 gr. en suspension dans 100 cc. d'eau) pour voir apparaître à l'ébullition la coloration bleue, caractéristique de l'hydrol qui disparaît à froid et reparaît à chaud.

Pour doser le formaldéhyde, on opère sur la totalité du liquide alcalin que l'on traite par l'éther. Par évaporation de l'éther, on obtient les cristaux de tétraméthyldiamidodiphénylméthane, du poids desquels on déduit celui de l'aldéhyde formique.

Difficultés de la recherche et du dosage du formol dans les conserves.

Ces difficultés tiennent :

1° à l'insolubilité des combinaisons albuminoïdes-aldéhyde formique ;

2° à la désamination.

1. Méthodes prescrites par l'Arrêté ministériel du 18 janvier 1907 (*C. R. Cons. Hyg. Seine*, 1907, p. 485).

1. *Insolubilité des combinaisons albuminoïdes formolées.*

La distillation en présence d'acide sulfurique et de sulfate de soude à saturation ne permet pas de détacher tout l'aldéhyde fixé à ces composés. Une partie est retenue énergiquement par les acides aminés, comme le prouvent les expériences suivantes.

Expérience I.

40 cc. de bouillon baignant une conserve de viande (bœuf assaisonné) [1] et contenant 184 milligr. d'azote aminé pour 100 cc. sont additionnés de 100 cc. de solution formolée. On laisse en contact pendant quelques minutes. On distille 50 cc. de liquide en présence de 2 cc. d'acide sulfurique au 1/5 et de 20 gr. de sulfate de soude. On recueille 35 cc. de distillat.

Le même essai est exécuté sur 40 cc. d'eau distillée + 100 cc. de dilution formolée dans les mêmes conditions.

Le dosage est opéré au moyen de β-naphtol sur le distillat dilué à 50 cc.

Résultats

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
	—	—
Dosage direct sur la solution formolée.....	56,2 mg.	5,62 mg.
Dosage sur le distillat témoin.....	57,0 mg.	5,70 mg.
Dosage sur le distillat provenant du bouillon.....	34,3 mg.	3,43 mg.

Il y a donc fixation par le bouillon de 2,27 mg. d'aldéhyde formique. Celle-ci est indéplaçable par distillation, même sous l'action d'un violent courant de vapeur d'eau, comme le prouvent les essais suivants exécutés sur le même liquide que précédemment.

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
	—	—
Distillat témoin en courant de vapeur d'eau.....	56,5 mg.	5,65 mg.
Distillat du bouillon formolé — —	34,6 mg.	3,46 mg.

Expérience II.

67 milligrammes de glycocolle sont dissous dans 50 cc. d'eau distillée, neutralisés exactement par quelques gouttes de soude décinormale, puis additionnés de 50 cc. de solution formolée préalablement neutralisée. On distille en présence de 4 cc. d'acide sulfurique au 1/5 et de 40 gr. de sulfate de soude. Puis on dose l'aldéhyde formique sur 60 cc. de distillat.

1. Ce bouillon présente une réaction acide.

Résultats

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
	—	—
Distillat témoin sans acide aminé.....	79,8 mg.	7,98 mg.
— du mélange glycocolle-formol	54,5 mg.	5,45 mg. [1]

On peut donc conclure que le procédé de la distillation habituellement employé est inexact (erreur en moins) en présence d'acides aminés tels que le glycocolle.

Nous verrons plus loin que le dosage direct au β-naphtol n'est pas influencé par la présence de ces acides aminés.

2° *Désamination.*

La présence d'amines dans le produit à analyser constitue une autre cause d'erreur dans le dosage de l'aldéhyde formique après distillation.

Ainsi que l'ont démontré Lunde et Mathiesen, puis Reay, de l'aldéhyde formique peut en effet se former au cours de cette distillation par oxydation des amines présentes (cas du poisson frais ou conservé).

Dans ces conditions, le dosage se trouve affecté d'une erreur en plus. Aussi Reay conseille-t-il de rechercher qualitativement le formol dans le simple extrait aqueux, plutôt que dans le distillat [2].

En opérant, comme cet auteur, sur de la morue salée, riche en amines (méthylamine, diméthylamine, triméthylamine), nous avons constaté que le dosage du formol était parfaitement possible sur l'extrait aqueux.

Expérience III.

200 grammes de filets de morue salée, finement broyés dans un hache-viande, sont mis à macérer pendant 6 heures à la glacière avec 500 cc. d'eau distillée. Le liquide de macération très visqueux est filtré grossièrement à travers une toile. Le liquide trouble obtenu constitue l'extrait aqueux. Soumis d'une part à la réaction de Schryver, d'autre part à celle du β-naphtol, il s'avère exempt d'aldéhyde formique.

50 cc. d'extrait aqueux sont additionnés de 100 cc. de solution formolée et laissés en contact pendant 4 heures à la température du laboratoire (20° C. environ).

Un témoin est fait avec 50 cc. d'eau distillée et 100 cc. de la même solution formolée.

1. La perte d'aldéhyde formique correspond au dixième environ de ce qui pourrait être immobilisé par le poids de glycocolle employé suivant l'équation de Sörensen (p. 45).
2. Reay. *Loc. cit.*, p. 79.

Au bout de ce temps, l'extrait aqueux, absolument infiltrable, est additionné de 10 % d'acide chlorhydrique concentré. On agite vivement pendant trois minutes, puis on filtre. Le dosage est exécuté sur une solution parfaitement limpide.

Le précipité obtenu avec le β-naphtol est apparemment souillé. On le dissout dans quelques centimètres cubes de soude à 10 grammes par litre et on le reprécipite, à froid, par acidification au moyen d'acide chlorhydrique. Ce précipité est ensuite lavé jusqu'à disparition de toute réaction avec le nitrate d'argent. On sèche à 100° et on pèse.

Résultats.

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
	—	—
Solution témoin	94,5 mg.	9,45 mg.
Extrait aqueux	93,0 mg.	9,30 mg.

Soit une erreur de 1,6 % de l'ordre des erreurs d'expérience.

Expérience IV.

200 grammes de filets de morue salée sont additionnés de 100 cc. de solution formolée et laissés en contact pendant deux heures. Au bout de ce temps, on ajoute 400 cc. d'eau acidulée à 10 % avec de l'acide chlorhydrique [1]. On laisse en contact pendant quatre heures. On filtre. La filtration se fait bien.

On opère le dosage sur 100 cc. Le précipité de dinaphtolméthane est soumis à la dissolution et à la reprécipitation comme il est dit plus haut.

Résultats.

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
	—	—
Solution témoin	152,8 mg.	15,28 mg.
Extrait chlorhydrique	151,0 mg.	15,10 mg.

Soit une erreur de 1,2 % de l'ordre des erreurs d'expérience.

Dans ces conditions, les amines n'influencent pas le dosage de l'aldéhyde formique.

1. Nous avons vérifié que la morue utilisée, traitée pendant le même temps par l'acide chlorhydrique à 10 %, ne fournissait pas la réaction de l'aldéhyde formique avec le réactif de Schryver et avec le β-naphtol.

Influence des acides aminés sur le dosage de l'aldéhyde formique au moyen de β-naphtol.

Les faits observés dans l'expérience II précédemment décrite, et l'action bien connue de l'aldéhyde formique sur les acides aminés suivant la réaction de Sörensen appliquée au dosage de ceux-ci :

$$R - CH\begin{matrix}COOH\\NH^2\end{matrix} + CH^2O \rightleftharpoons R - CH\begin{matrix}COOH\\N = CH^2\end{matrix} + H^2O$$ [1]

nous ont conduit à examiner dans quelle mesure la présence de ces acides pouvait nuire au dosage de l'aldéhyde formique par le β-naphtol.

Le mode opératoire suivant a été utilisé :

Une quantité déterminée d'acide aminé est dissoute dans 20 cc. d'eau et neutralisée par quelques gouttes de soude N/10 en présence de phtaléine. On l'additionne de 100 cc. d'une solution formique contenant 25 à 200 milligrammes d'aldéhyde par litre, préalablement neutralisée par quelques gouttes de soude N/10. Le contact est prolongé pendant un temps variant de vingt minutes à vingt-quatre heures à la température de laboratoire (20°). Après ce temps, on opère le dosage du formol sur 100 cc. de solution. Un dosage témoin est fait dans les mêmes conditions avec de l'eau distillée au lieu de la solution d'acide aminé.

Expérience V.

Glycocolle $CH^2(NH^2)$-COOH

Durée de contact avec la solution formique : 20 minutes.

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
	—	—
Solution formique témoin	156,5 mg.	15,65 mg.
Solution formique + 20,7 mg. de glycocolle	155,8 mg.	15,58 mg.
Erreur pour cent	— 0,4	

Durée du contact de la solution formique : 6 heures.

1. Sörensen (J.). *Bioch. Zeits.*, 1907, t. VII, p. 45 et 407. — Bertrand (G.), Thomas (P.). *Loc. cit.*, p. 252. — Froidevaux (J.). *Ann. Fals.*, 1925, p. 151. Dans cette réaction le groupe NH^2 est transformé en $N = CH^2$ inapte à contrebalancer la fonction acide COOH qui devient dosable acidimétriquement. Cette réaction est réversible. Sörensen remarqua qu'un excès de formol favorise la marche de la réaction de gauche à droite, une augmentation de la quantité d'eau tend à produire l'effet contraire, c'est-à-dire qu'elle provoque la destruction de plus en plus accentuée de l'état d'équilibre.

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
Solution témoin	167,0 mg.	16,70 mg.
Solution formique + 20,0 mg. de glycocolle	163,6 mg.	16,36 mg.
Erreur pour cent	— 1,4	

Durée du contact de la solution formique : 24 heures.

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
Solution témoin	166,5 mg.	16,65 mg.
Solution formique + 61,2 mg. de glycocolle	164,0 mg.	16,40 mg.
Erreur pour cent	— 1,5	

Expérience VI.

Alanine racémique $CH^3 - CH\begin{matrix}NH^2\\COOH\end{matrix}$

Durée du contact avec la solution formique : 20 minutes.

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
Solution témoin	150,0 mg.	15,00 mg.
Solution formique + 18,5 mg. d'alanine	148,0 mg.	14,80 mg.
Erreur pour cent	— 1;3	
Même essai avec 36,4 mg. d'alanine	151,0 mg.	15,10 mg.
Erreur pour cent	+ 1,1	

Durée de contact avec la solution formique : 6 heures

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
Solution témoin	170,0 mg.	17,00 mg.
Solution formique + 19,2 mg. d'alanine	168,0 mg.	16,80 mg.
Erreur pour cent	— 1,8	

Durée du contact avec la solution formique : 24 heures

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
Solution témoin	170,0 mg.	17,00 mg.
Solution formique + 20.0 mg. d'alanine	168,6 mg.	16,86 mg.
Erreur pour cent	— 0,8	

Expérience VII.

Leucine gauche. $\begin{matrix}CH^3\\CH^3\end{matrix}\!\!>\!CH - CH^2 - CH\,(NH^2) - COOH$

Durée du contact avec la solution formique : 20 minutes.

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
	—	—
Solution témoin	150,0 mg.	15,00 mg.
Solution formique + 25,7 mg. de leucine,	150,0 mg.	15,00 mg.
Erreur pour cent,	— 0,0	
Même essai + 39,4 mg. de leucine	148,5 mg.	14,85 mg.
Erreur pour cent	— 1,0	

Durée de contact avec la solution formique : 6 heures.

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
	—	—
Solution témoin,	166,8 mg.	16,68 mg.
Solution formique + 22,2 mg. leucine	166,0 mg.	16,60 mg,
Erreur pour cent	— 0,3	

Durée de contact avec la solution formique : 24 heures.

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
	—	—
Solution témoin	170,0 mg.	17,00 mg.
Solution formique + 20.0 mg. leucine	168,0 mg.	16,80 mg.
Erreur pour cent	— 1,1	

Expérience VIII.

Cas particulier dans lequel l'aldéhyde formique se trouve en faibles proportions relativement aux acides aminés.

Durée du contact avec la solution formique : 6 heures.

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
	—	—
Solution formique témoin	27,0 mg.	2,70 mg.
Solution formique + 80,0 mg. de glycocolle	26,6 mg.	2,66 mg.
— — + 18,7 mg. d'alanine	27,0 mg.	2,70 mg.
— — + 22,7 mg. de leucine	28,0 mg.	2,80 mg.
Erreur pour cent	— 1,4 à -3,7	

Expérience IX.

Influence de l'acidité chlorhydrique sur le dosage de l'aldéhyde formique en présence d'acides aminés.

Le taux d'acide chlorhydrique a une influence importante sur l'exactitude du dosage au β-naphtol, comme nous l'avons vu au début de ce travail. En présence d'acides aminés, cette influence est particulièrement sensible.

Pour l'étudier, nous avons opéré des dosages comparatifs : d'une part avec une solution titrée de formol sans acides aminés et d'autre part avec la même solution additionnée de 20,0 milligr. de glycocolle, après un contact de 20 minutes.

Résultats.

100 cc. de solution formique (190 millig. CH^2O par litre) + 20 millig. de glycocolle

Acidité	Témoin	Sol. formique + glycocolle	Erreur par rapport au témoin
% HCl en volume	CH^2O mg. pour 100 cc.	CH^2O mg. pour 100 cc.	%
1 %	6,57 mg	6,05 mg	7,97 %
5 %	13,55	12,20 mg	9,63 %
10 %	18,94 mg	18,74 mg	1.10 %
15 %	19,40 [1]	18,70 mg	3.68 %

Ces expériences montrent que la présence d'acides aminés ne gêne en rien le dosage de faibles proportions d'aldéhyde formique au moyen de β-naphtol et que, d'autre part, le degré d'acidité chlorhydrique doit être scrupuleusement respecté. On peut expliquer le succès du dosage en présence d'acides aminés, dans les conditions indiquées, par une désamination plus ou moins directe de ceux-ci donnant lieu à des composés volatils (amines ou azote libre) qui échappent à l'action de l'aldéhyde formique [2].

1. Il faut noter que ce degré d'acidité provoque une surcharge de précipité de dinaphtolméthane par suite de la formation d'un peu de dinaphtopyrane.

2. Zélény (L.), Gortner (A.). *Journ. biol. Chem.*, 1931, t. XC, p. 427. Ces auteurs ont montré que le traitement par le formaldéhyde en milieu acide (acide chlorhydrique à 20 %) fait passer 12 à 40 % de l'azote total (cas de l'alanine, de la tyrosine, de la caséine) à l'état d'amines volatiles. La vitesse de désamination des amino-acides en solution acide est franchement accélérée par l'addition d'aldéhyde formique. La production d'azote volatil ne résulte probablement pas d'une désamination directe de l'acide aminé, mais implique la formation d'un composé instable non volatil.

Méthode nouvelle pour le dosage de l'aldéhyde formique libre contenu dans les conserves.

Les diverses considérations qui précèdent nous conduisent à proposer une méthode nouvelle de recherche et de dosage du formol dans les conserves alimentaires et notamment les conserves de viande et de poisson. Méthode rapide et spécifique dans laquelle les difficultés que nous avons signalées sont réduites au minimum.

50 à 100 grammes de viande sont broyés finement dans le hache-viande. Ils sont introduits dans un flacon de 1 litre et agités vivement pendant cinq minutes avec 40 grammes de chlorure de sodium et 200 centimètres cubes d'acide chlorhydrique à 10 % [1]. On laisse reposer une heure, puis on filtre. La filtration est rapide. A 100 cc. de filtrat limpide on ajoute 0,3 gr. de β-naphtol purifié par deux cristallisations et l'on porte à l'ébullition pendant quinze minutes, dans un ballon à col rodé de 200 cc. réuni à un réfrigérant à reflux.

On laisse refroidir jusqu'au voisinage de 60°. On rince le réfrigérant à l'eau tiède. On détache le ballon et on le transporte dans un bain d'eau maintenu à la température de 60° C. On abandonne à cette température pendant une heure.

Le précipité de dinaphtolméthane obtenu est filtré sur filtre taré (lavé aux acides) et sur l'entonnoir de Fosse, lavé deux fois à l'eau chlorhydrique à 1 %, puis deux fois à l'eau pure. Après essorage à la trompe, on sèche à 100° pendant une heure environ et on pèse.

On dissout alors le précipité dans quelques centimètres cubes de solution de soude à 10 gr. par litre et on reprécipite par acidification à l'acide chlorhydrique. Le nouveau précipité est lavé à l'eau pure froide, séché et pesé. Il n'accuse en général qu'une infime différence de poids avec le précédent. Divisé par 5 ce poids donne la quantité d'aldéhyde formique contenu dans la prise d'essai.

Le précipité est alors soumis à l'*identification* :

A cet effet on le dissout dans l'anhydride acétique (0 cc. 5 pour 10 mg.) dans un tube à essais en Pyrex muni d'un long tube refroidisseur puis on porte à l'ébullition à reflux pendant 45 à 60 minutes. Par refroidissement, l'acétate de dinaphtolméthane cristallise en fines aiguilles blanches fusibles à 214° au bloc Maquenne (le rendement est de 50 %). Avant d'être soumis à l'éprcuve du point de fusion, les cristaux sont séparés du liquide, lavés à deux ou trois reprises avec de l'acide acétique cristallisable et ensuite séchés à l'air sur un papier filtre [2].

1. L'addition de chlorure de sodium a pour but d'empêcher les albumines, globulines, etc. d'entrer en pseudo-solution et de souiller le précipité naphtolique. Dans les conditions d'acidité où l'on opère cette concentration saline est suffisante.

2. Un procédé rapide consiste à laisser s'évaporer à l'air la solution anhydride acétique

L'ensemble des opérations dure trois heures trente environ. Inutile de dire qu'elles peuvent être faites en séries.

Voici quelques résultats obtenus par cette méthode :

Expérience X.

Conserve de bœuf assaisonné contenue en boîte de fer étamé et préparée depuis un an.

Le mode opératoire précédent aussi bien que la distillation par le procédé officiel ont démontré l'absence de formol. Le taux d'acides aminés, déterminé par formol-titration du liquide provenant de l'agitation de la viande broyée avec de l'eau distillée (contact de 24 heures à la glacière), correspond à 72,5 milligr. d'azote pour 100 gr. de viande. Deux prises d'essai de 50 gr. de viande broyée sont chacune mélangées intimement au mortier, avec 200 cc. d'une solution contenant 18 mg. 5 d'aldéhyde formique pour 100 cc.

Après un contact de 48 heures, à la glacière, l'un des essais soumis au dosage décrit ci-dessus (100 cc.) permet de retrouver 12,5 millig. de formol, alors que la méthode par distillation ne permet de retrouver que 5,77 milligrammes.

La seconde prise d'essai est alors additionnée de 100 cc. de la même solution de formol (18 mg. 5 par 100 cc.). On laisse en contact une vingtaine de minutes. On dose au β-naphtol.

Résultats.

Quantité totale d'aldéhyde ajouté (18,5 × 2) + 18,5.....	55,5 mg.
— d'aldéhyde fixé sur les 200 premiers centim. cubes (18,5 — 12,5)2.....	12,0 mg.
Il doit rester.....	43,5 mg.
soit pour 100 cc. $\frac{43,5}{3}$ = ...	14,5 mg.

Poids de dinaphtolméthane trouvé : 148,0 mg., soit 14,8 mgr. de CH^2O.

Expérience XI.

50 grammes de viande (bœuf assaisonné) sont agités vivement avec 250 cc. d'eau distillée et maintenus pendant 4 heures à la glacière.

Le liquide de macération est filtré grossièrement à travers un linge et agité avec 100 cc. de solution formolée. Après 6 heures de contact à la température ordinaire, on ajoute 10 % d'acide chlorhydrique. On agite, on laisse reposer quelques minutes, puis on filtre et on opère le dosage au β-naphtol sur 100 cc.

acétate de dinaphtolméthane sur un verre de montre. Les cristaux d'acétate de dinaphtolméthane, quoique moins beaux, lavés à l'acide acétique et séchés à l'air peuvent servir à la détermination du point de fusion.

Résultats.

	Dinaphtol-méthane	Aldéhyde formique
Solution témoin	35,1 mg.	3,51 mg.
Après contact avec l'extrait aqueux de viande	35,0 mg.	3,50 mg.

Expérience XII.

Appliquant ce procédé au dosage de l'aldéhyde formique dans quelques produits fumés, nous avons obtenu les résultats suivants :

Viandes	Aldéhyde formique en millig. pour 100 gr. de substance
Jambon fumé	0,25
Bacon	0,42
Lard fumé	0,20
Saucisse de Morteau	0,08
Saucisse dite « gendarme »	0,20
Saucisse de Bretagne	0,06
Poitrine de porc fumée	0,82
Poissons :	
Hareng saur	0,38
Saumon fumé	0,07

CHAPITRE IV

L'ALDÉHYDE FORMIQUE DANS L'AIR

L'aldéhyde formique dans l'air normal.

L'aldéhyde formique a été trouvé dans l'air normal des *villes*. Il y existerait sous forme d'aldéhyde libre et sous forme d'une combinaison capable de régénérer celle-ci par un acide : le méthylal (Henriet) [1]. La dose est fort variable. Utilisant le passage de l'air, pendant vingt jours, à raison de six heures par jour, avec une vitesse de 3 litres par minute, sur des bandes de papier teint à la fuchsine, Trillat en 1905, à l'Institut Pasteur, trouva dans 100 mètres cubes d'air 24 à 31 milligrammes d'aldéhyde formique [2]. En plein centre d'usines, à Courbevoie, le même auteur obtint une moyenne de 55 milligrammes.

Albert-Lévy et Henriet, dosant les dérivés de l'aldéhyde formique en même temps que celui-ci (combustion sur de l'oxyde rouge de mercure), trouvèrent des doses plus importantes : de l'ordre de 2 à 6 grammes pour 100 mètres cubes [3]. L'aldéhyde formique contenu dans les *fumées* paraît être une des causes principales de la présence de ce corps dans l'atmosphère des villes. Trillat a montré que dans toute combustion, même celle des hydrocarbures [4], il peut se former du formol, et, en réalité, les doses trouvées dans les fumées de villes industrielles peuvent être beaucoup plus considérables par suite du contact des produits de combustion avec des parois métalliques chaudes dont l'influence favorable sur la formation catalytique de l'aldéhyde formique est certaine.

C'est ainsi que l'acroléine qui se forme dans les combustions, fournit du formaldéhyde en quantités notables chaque fois que ses vapeurs sont en contact avec une paroi métallique chaude en se décomposant de la façon suivante :

$$CH^2 = CH - CHO + O^2 = CH^2O + CHO - CHO$$

1. Henriet (H.). *Ann. Observ. mun. Montsouris*, 1902, t. III, p. 295, et 1904, t. V, p. 37 et 259.

2. Trillat (A.). *C. R. Ac. Sc.*, 1904, t. CXXXVIII, p. 161. *Revue d'hygiène*, 1905, t. XXVII, p. 140.

3. Henriet (H.). *Ann. Observ. mun. Montsouris*, 1904, t. V, p. 262.

4. Voir chapitre III, p. 39, note 1. — Les suies provenant des dépôts de fumées contiennent l'adhéhyde formique à l'état polymérisé (paraformaldéhyde et trioxyméthylène).

Henriet a également trouvé l'aldéhyde formique dans l'*eau de brouillard* en utilisant la réaction de Cambier et Brochet à l'hydroxylamine (formation de bleu de Prusse) [1].

L'existence du formol dans les couches inférieures de l'atmosphère s'explique suivant Henriet par le phénomène de la condensation de la vapeur d'eau. Celle-ci ne dissout pas des gaz comme l'anhydride carbonique et l'oxyde de carbone qui se produisent dans les combustions en proportions infiniment plus grandes que l'aldéhyde formique. Ces gaz n'ont aucune action sur la composition de l'air d'une cité. Le taux moyen de CO^2 ne subit on le sait que des variations insensibles et l'oxyde de carbone n'est pas retrouvé. La condensation n'agit donc pas sur ces gaz qui sont abandonnés à la masse atmosphérique, mais elle condense toutes les vapeurs solubles pour les rejeter sur le sol. Les expériences de pollution atmosphérique et l'observation tristement célèbre des brouillards de la Meuse (1930) montrent en effet que tous les produits de la combustion susceptibles de se dissoudre dans l'eau font partie de l'atmosphère des cités [2]. Le formol est de ceux-là. Henriet a recherché l'aldéhyde formique dans *l'air rejeté par la respiration* et n'en a pas trouvé.

Ce corps n'existe pas non plus dans les atmosphères non souillées comme l'*air du bord de la mer*, au moins dans nos régions, ni dans les *sols* (Henriet).

Il constituerait, en somme, une impureté de l'atmosphère urbaine.

Cependant, des recherches récentes exécutées dans les *régions tropicales* et les conceptions nouvelles concernant la photosynthèse de l'aldéhyde formique donnent à cette question de l'aldéhyde formique atmosphérique un renouveau d'actualité.

L'*eau de pluie tropicale*, en effet, a été trouvée constamment contenir du formol à la dose de 0,15 à 1,0 mgr. par litre [3]. Cette quantité est d'autant plus élevée que la période avant la précipitation a été plus fortement et plus longuement insolée.

Dhar et Ram émettent l'hypothèse d'une formation atmosphérique du formol à partir du gaz carbonique et de la vapeur d'eau. La réduction du gaz carbonique serait due à l'action de l'hydrogène atomique provenant de la photolyse de l'eau, le stade intermédiaire étant l'oxyde de carbone suivant l'idée de Berthelot [4] et les expériences réalisées par Daniel Berthelot et Gaudechon [5].

Dhar et Ram pensent, en outre, qu'une partie de l'absorption ultraviolette so-

1. Henriet (H.). *Contribution à l'étude de l'air atmosphérique*. Thèse Doctorat Sc. phys., Paris, Gauthier-Villars, 1906, p. 64 et suiv.

2. *L'acide formique* rencontré dans les grands centres habités ne serait pas dû à l'oxydation de l'aldéhyde, celle-ci paraissant séjourner trop peu de temps dans l'air pour s'oxyder d'une façon appréciable.

3. Dhar (N. R.), Ram (A.). *Journ. indian Chem. Soc.*, 1933, t. X, p. 161, et *Journ. phys. Chem.*, 1933, t. XXXVII, p. 525.

4. Berthelot (M.). Leçons sur les méthodes générales de synthèse en chimie organique, p. 180.

5. Berthelot (D.), Gaudechon (H.). *C. R. Ac. Sc.*, 1910, t. CL, p. 117, oct. 1690 ; 1912, t. CLIV, p. 1805.

laire attribuée jusqu'à présent à l'ozone pourrait être due à l'aldéhyde formique [1].

Ils observent que l'énergie nécessaire à la formation de l'aldéhyde formique à partir de CO^2 et H^2O est la même que celle nécessaire à la rupture de la liaison H-OH, premier stade de la photosynthèse. Or, on ne peut s'empêcher de remarquer que la réduction photochimique de l'oxyde de carbone par l'hydrogène activé pour donner CH^2O, en présence d'une vapeur (vapeur de mercure) jouant le rôle de sensibilisateur optique, sous l'action de la radiation 2,536 angströms est un fait connu qui s'apprête à entrer dans la pratique industrielle [2].

Ces exemples soulignent suffisamment l'intérêt que présente la question et l'importance qu'il peut y avoir à disposer d'une bonne méthode d'analyse pour les contrôler.

MÉTHODES DE RECHERCHE ET DE DOSAGE DE L'ALDÉHYDE FORMIQUE DANS L'AIR

Mode de captage. Le captage du formol contenu dans l'air est opéré soit par barbotage dans de l'eau contenue dans une série de flacons ou de tubes à boules (Trillat-Leymann), soit par le filtrage de l'air sur des substances qui fixent le formol ou se réduisent à son contact (Henriet). Suivant les procédés, la vitesse de l'air est plus ou moins grande. Elle est de 180 litres à l'heure pour Trillat [3] et de 1 l. 5 par heure pour Henriet [4].

Dosage. Trillat utilise la coloration bleue que prend une bande de papier teint à la fuchsine au contact de l'eau provenant du barbotage de l'air aspiré.

Leymann [5] dose volumétriquement l'aldéhyde formique dans le contenu des tubes barboteurs par la méthode de Ronjin-Iwanoff qui repose sur l'oxydation du formol en acide formique par l'acide hypo-iodeux. A cet effet, on additionne l'ensemble d'une solution d'iode titrée. On ajoute goutte à goutte une solution de soude jusqu'à ce qu'il se forme une légère coloration brun-jaune. En présence de quelques gouttes d'acide sulfurique cette coloration se stabilise. Après quelque temps, on décompose tout l'iodure de sodium au moyen d'un léger excès d'acide sulfurique et, après un quart d'heure de repos, on titre en réaction acide avec l'hyposulfite de soude. Chaque centimètre cube d'iode N/10 disparu équivaut à 1,5 mg. de formol.

Henriet, enfin, emploie le passage de l'air à travers une colonne de coton de

1. Le maximum d'absorption lumineuse de l'aldéhyde formique en vapeur se trouve vers 2.935 A. Dhar et Ram attribuent plusieurs raies d'absorption du spectre solaire au radical OH et à HCHO.

2. Cario (G.), Franck (D.). *Zeits. Physik.* 1922, t. XI, p. 161. — Frankenburger (A.). *Zeits. Elektroch.*, 1930, t. XXXVI, p. 757. — Kœng (A.). *Chem. Zentralb.*, 1926, t. XCVII, p. 2134. — Brevets français nos 649, 295 et 684, 969, cités par Emschwiller (G.). *Loc. cit.*

3. Trillat (A.). *Bull. Soc. chim.*, 1905, t. XXXIII, p. 386.

4. Henriet (H.). Thèse. *Loc. cit.*, p. 69.

5. Leymann (H.), *Hygiène du Travail.* Bureau intern. du travail. Genève, 1925, t. I, p. 168.

verre imbibé d'oxyde rouge de mercure et maintenu à la température de 250°. Il y a oxydation et transformation en anhydride carbonique que l'on dose par absorption dans une solution alcaline. On fait en même temps un dosage de l'anhydride carbonique dans l'air. On soustrait le résultat du chiffre global pour avoir celui correspondant à l'aldéhyde formique et à d'autres gaz réducteurs.

Les considérations que nous avons eu l'occasion de faire à plusieurs reprises au cours de cette étude, sont valables ici encore. Les procédés employés peuvent être influencés par divers corps réducteurs autres que le formol et ils ne permettent pas d'identifier celui-ci d'une manière absolue.

Le dosage au moyen de β-naphtol constitue une amélioration certaine.

***

Nous nous sommes posé deux questions :

Le formol contenu dans l'air est-il dosable par ce procédé ?

Quelles sont les quantités de formol libre réellement présentes dans l'air de Paris ?

1. *Peut-on doser le formol en faibles proportions dans l'air ?*

Expérience I.

La source de formol utilisée dans nos expériences étant le *trioxyméthylène*, nous nous sommes préoccupé tout d'abord de savoir dans quelles conditions d'exactitude par rapport à la méthode habituelle au sulfite, le dosage de l'aldéhyde formique dans ce corps pouvait se faire au moyen du β-naphtol.

La *méthode au sulfite* est basée, on le sait, sur la formation d'un sulfite de formyl-sodium suivant l'équation :

$$2\ SO^3Na^2 + H.CHO + H^2O = 2\ NaOH + (SO^3Na)^2CH^2.$$

On dissout 0,5 à 0,7 gr. de trioxyméthylène dans 20 cc. d'une solution de sulfite de sodium à 20 %. On ajoute quelques gouttes de phtaléine, puis on verse dans cette solution de l'acide sulfurique ou de l'acide chlorhydrique normal jusqu'à décoloration (t). On opère de même avec la solution de sulfite de soude seule (t').

Le nombre de cc. (t — t') multiplié par 0,030 gr. donne le titre en aldéhyde formique pour la prise d'essai.

Méthode au β-naphtol. Un poids très faible de trioxyméthylène (20 millígr. environ) est dissous dans 100 cc. d'eau distillée additionnée de 10 % d'acide chlorhydrique concentré. On ajoute 0,3 gr. de β-naphtol pur puis on porte au reflux pendant un quart d'heure et l'on opère le reste du dosage comme pour le formol.

Le poids de dinaphtolméthane multiplié par 0,1 donne le poids de l'aldéhyde formique.

Résultats.

Prise d'essai	Méthode au sulfite	Méthode au β-naphtol
526 milligr.	84,00 %	
22 milligr.		84,45 %

Le procédé au β-naphtol permet donc le dosage de l'aldéhyde formique contenu dans le trioxyméthylène.

Expérience II.

On introduit 20 milligr. environ de trioxyméthylène dans un tube à essais en verre Pyrex muni d'un bouchon en caoutchouc qui porte un tube deux fois coudé. Ce tube adducteur débouche au fond d'un flacon de 3 litres en communication avec l'air atmosphérique par l'intermédiaire de deux barboteurs à boules contenant de l'eau distillée.

On chauffe légèrement le tube en Pyrex de manière à décomposer le trioxyméthylène. Dès que celui-ci a disparu, on arrête le chauffage, on laisse refroidir, puis on débranche rapidement le tube générateur.

On vérifie au moyen de β-naphtol que le liquide des barboteurs n'a pas reçu de formol par suite d'une surpression dans le flacon de 3 litres au moment du chauffage. On regarnit ces barboteurs avec de l'eau distillée (20 cc. dans chaque barboteur). Puis on fait passer dans le flacon de 3 litres un courant d'air de 8 à 10 litres par heure pendant 1/2 heure de façon à balayer l'atmosphère formolée vers les barboteurs à eau.

Ceci fait on dose l'aldéhyde formique :

1° dans les barboteurs,

2° dans le tube générateur et dans le tube adducteur où une grande partie du trioxyméthylène employé s'est condensé par refroidissement.

Si T représente la masse totale de formol contenu dans la prise d'essai (trioxyméthylène), T' le formol correspondant au trioxyméthylène condensé dans le tube générateur et le tube adducteur, et T'' le formol retrouvé dans l'eau des barboteurs, la différence T — T' doit correspondre (à l'erreur expérimentale près) à T'' et la somme T' + T '' doit être égale à T.

Résultats

Poids de trioxyméthylène employé : 24,7 mg., soit 20,85 mg. d'aldéhyde formique,.....		(T)
Aldéhyde formique du trioxyméthylène condensé dans le tube adducteur et le générateur.....	20,18	(T')

Aldéhyde formique trouvé dans le premier barboteur..... 0,36
Aldéhyde formique trouvé dans le second barboteur..... traces } (T'')

Somme T' + T'' = 20,54 mg. au lieu de 20,85 mg., soit une erreur de 1,4 % de l'ordre des erreurs d'expérience [1].

La méthode de dosage au β-naphtol est donc utilisable. Remarquons aussi que l'aldéhyde formique même très dilué se dissout presque intégralement dans le premier barboteur à boules.

2. *Recherche et dosage de l'aldéhyde formique dans l'air de Paris.*

Mode opératoire. L'appareil est constitué par un tube aspirateur allant prendre l'air à l'extérieur du laboratoire, réuni à une trompe à eau par l'intermédiaire de deux tubes à boules contenant chacun 25 cc. d'eau distillée, un laveur de Durand servant de flacon témoin, et un débitomètre.

Des expériences de contrôle ont montré que tout l'aldéhyde formique est retenu dans les tubes à boules si le barbotage se fait au régime maximum de 40 litres par heure.

Les expériences marchent jour et nuit. Les volumes d'air analysés varient de 4.000 à 18.000 litres. Après ce passage, le liquide contenu dans les tubes laveurs, de réaction neutre ou très faiblement acide, est filtré, pour séparer les particules solides accidentellement entraînées, puis additionné de 10 % d'acide chlorhydrique concentré et de 0,3 % de β-naphtol. On porte pendant un quart d'heure à l'ébullition à reflux. Après refroidissement à 60° C., on maintient à cette température pendant 1 heure 30. Le précipité est filtré sur filtre taré, lavé à l'eau légèrement chlorhydrique puis à l'eau pure à 60°. On sèche à 100° et on pèse sur une balance sensible au 1/50 de milligramme.

Expérience I.

Laboratoire d'Hygiène. Plein centre de Paris. Prélèvement de l'air à une hauteur de 8 m. face à l'est. Période du 1er au 12 février 1937. Température moyenne : + 8° C. Etat hygrométrique : 80-92. Volume d'air utilisé : 8.450 litres.

Poids d'aldéhyde formique en milligr. pour 100 m³ d'air : 4,2.

Expérience II.

Même emplacement. Période du 24 février au 1er mars 1937. Température moyenne : + 10° C. Etat hygrométrique : 70-95. Volume d'air utilisé : 4.822 litres.

Poids d'aldéhyde formique en millig. pour 100 m³ d'air : 7,3.

1. Parmi ces erreurs on peut signaler la fixation de formol par le caoutchouc. Celle-ci quoique faible est notable. *Après un contact de 24 heures* elle est d'environ 0,1 mgr. d'aldéhyde par raccord ou bouchon employé.

Expérience III.

Même emplacement. Période du 1er au 8 mars 1937.

Température moyenne : + 7° C. Etat hygrométrique : 40-95. Volume d'air utilisé : 6.745 litres.

Poids d'aldéhyde formique en milligr. pour 100 m³ d'air : 2,9.

Expérience IV.

Même emplacement. Période du 9 au 19 mars 1937.

Température moyenne : + 12°. C. Etat hygrométrique : 50-95. Volume d'air utilisé : 10.315 litres.

Poids d'aldéhyde formique en milligr. pour 100 m³ d'air : 2,1.

Expérience V.

Muséum d'Histoire naturelle. Laboratoire de Chimie organique. Prélèvement de l'air dans le jardin, face au nord, à une hauteur de 4 mètres. Période du 6 au 16 mars 1937.

Température moyenne : + 9° C. Etat hygrométrique : 50-95. Volume d'air utilisé : 10.350 litres.

Poids d'aldéhyde formique en millig. pour 100 m³ d'air : 0,9.

Expérience VI.

Même emplacement que précédemment. Période du 6 au 24 mars 1937.

Température moyenne : + 13° C. Etat hygrométrique : 60-75. Volume d'air utilisé : 18.784 litres.

Poids d'aldéhyde formique en millig. pour 100 m³ d'air : 0 ,1.

Les précipités obtenus dans ces expériences ont été réunis par groupes de deux et le dinaphtolméthane y a été caractérisé par transformation en chlorure de dinaphtopyrane au moyen de l'oxychlorure de phosphore. Le chlorure de dinaphtopyrane était ensuite transformé en bromure de dinaphtopyryle d'après les indications fournies dans le chapitre premier (p. 16).

Quoique très variables, et moins importantes dans un jardin bien aéré qu'en plein centre de la ville (au milieu d'îlots insalubres), les doses trouvées sont bien inférieures à celles indiquées par d'autres auteurs, ce qui tient probablement au procédé de dosage employé.

Recherche et dosage de l'aldéhyde formique dans l'eau de pluie.

Cette recherche est rendue difficile par suite de la concentration qu'il faut faire subir à la solution pour parvenir à y doser le formol.

Nous avons essayé plusieurs procédés :

Partant de l'observation (chapitre III, p. 48) que le dosage par le β-naphtol est parfaitement possible en présence d'acides aminés, nous avons essayé de capter le formol en utilisant la réaction de Sörensen et de concentrer ensuite le formol ainsi retenu par distillation dans le vide à 45-50° C., le milieu demeurant rigoureusement neutre pendant toute l'opération.

Nous avons fait un essai analogue en fixant le formol au moyen d'ammoniaque en large excès sous forme d'hexaméthylène tétramine et concentrant ensuite dans le vide.

Les résultats ne furent pas encourageants, comme le prouvent les chiffres suivants choisis entre plusieurs autres du même ordre :

Expérience I.

	Aldéhyde formique introduit en milligr. par litre	Aldéhyde formique trouvé
	—	—
Procédé aux acides aminés (glycocolle).	7,90 mg.	2,45 mg.
Procédé à l'hexaméthylènetétramine...	1,10 mg.	0,60 mg.

Ce qui correspond dans le premier cas à une perte de 68 % et dans le second à une perte de 45 %.

Un autre essai, fait en vue de fixer directement l'aldéhyde formique sur le β-naphtol au cours de la concentration, ne fut pas plus heureux : la perte atteignit 95 %.

Nous avons alors essayé la concentration par distillations successives dans un courant de vapeur d'eau, d'abord en milieu neutre puis en milieu acide (destruction des polymères).

Expérience II.

	Aldéhyde formique introduit par litre en mg.	Aldéhyde formique trouvé en mg.	
	—	—	
Concentration en milieu neutre..	1,36 mg.	100 premiers cc. de distillat : 0,2 250 cc. suivants ..... 0,3 200 cc. — ..... 0,2 200 cc. — 0,1	0,8 mg.
Concentration en milieu acide (10 cc. SO^2H^2 au 1/5 par litre)..	1,36 mg.	100 premiers cc ..... 0,5 200 cc, suivants..... 0,6 100 cc. suivants..... 0,2	1,3 mg.

Cette expérience confirme celles d'Auerbach, de Willkinson et Gibson [1]. Elle montre les difficultés qu'il y a à entraîner tout le formaldéhyde dans les premières portions d'un distillat.

Expérience III.

Analyse d'eau de pluie faite en utilisant la concentration en milieu acide et dans un courant de vapeur d'eau.

Pluviomètre installé sur le toit du Laboratoire d'Hygiène.

Période du 15 mars au 30 avril 1937.

Volume total utilisé : 8.000 centimètres cubes.

Après filtration, on opère une 1re concentration : de 8.000 à 3.000 cc.
2e — de 3.000 à 1.000 cc.
3e — de 1.000 à 500 cc.
4e — de 500 à 200 cc.

Le dosage au β-naphtol est fait sur ces 200 cc.

Poids d'aldéhyde formique en milligr. : 0 mg. 18 [2]
Soit par litre..... 0 mg. 02

II. *L'aldéhyde formique dans l'air des locaux désinfectés ou autres.*

Dans la prophylaxie des maladies contagieuses, l'aldéhyde formique est employé comme désinfectant depuis les travaux de Trillat (1888) [3]. Pour la désinfection des locaux, on l'utilise en vapeurs à la concentration de 3 à 4 grammes d'aldéhyde formique par mètre cube d'air. Ces vapeurs sont produites par des procédés variés basés sur la vaporisation ou sur des réactions chimiques.

Même en local bien clos, il est difficile de conserver longtemps la quantité d'aldéhyde ainsi introduite par suite du simple renouvellement d'air ou de la transformation de la majeure partie de cet aldéhyde en paraformaldéhyde ou trioxyméthylène [4].

Aussi le contrôle de la désinfection s'impose-t-il.

Il peut être bactériologique ou chimique.

Contrôle bactériologique. Ce contrôle est simple. Au début de la désinfection on dépose dans le local des tests microbiens constitués par de petits bandes de papier chargées de cultures variées (staphylocoques, bacilles coli, spores de charbon, bacilles de Loeffler) et, la désinfection terminée, on examine au laboratoire les cultures qui ont été détruites.

Contrôle chimique. Il est utile de pouvoir mesurer, autrement que par l'éva-

1. Auerbach (D.). *Chem. Centr.*, 1905, t. II, p. 1081. — Wilkinson (A.), Gibson (J. A.). *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1912, t. XLIII, p. 695.
2. Identification par l'oxychlorure de phosphore.
4. Trillat (A.). *Bull. Ac. Méd.*, 1936, t. CXV, p. 275.
3. Rubner (A.), Peerenboom (W.). *Rev. Hyg.*, 1913, p. 1158. — Dujarric de la Rivière (H.). *La désinfection*, Paris, Mouvement sanitaire, 1925, p. 12 et 37.

luation de la puissance antiseptique, la puissance de pénétration des vapeurs de formaldéhyde et de la rendre pour ainsi dire visible directement.

Les procédés utilisés peuvent se ramener à trois :

1. L'action sur les matières albuminoïdes.
2. L'action sur les matières colorantes.
3. Le dosage de l'aldéhyde formique après captation par moyens variables.

1. *Action sur les matières albuminoïdes.* Le procédé est basé sur l'insolubilisation de la gélatine.

On fait une dissolution d'une partie de gélatine dans une partie d'eau et, au moyen d'un pinceau, on badigeonne des petits carrés de verre de 3 à 4 cm. de côté. Ces petits carrés sont disposés dans les diverses parties du local. On reconnaît que les vapeurs d'aldéhyde formique ont atteint la gélatine en ce que celle-ci est devenue insoluble. Il suffit de plonger les petits carrés de verre dans l'eau bouillante. La pellicule se détache en cas d'insolubilisation.

2. *Action sur les matières colorantes* [1]. Les matières colorantes employées appartiennent à des groupes amidés dans lesquels un ou plusieurs atomes d'hydrogène sont libres : la fuchsine, la safranine. Il se forme une condensation avec élimination d'eau et le résidu méthylénique vient se substituer à la place des hydrogènes.

La transformation a pour résultat de bleuter les matières colorantes rouges.

On teint, dans une dissolution de fuchsine, une petite bande d'étoffe de soie et on la coupe en carrés de 1 cm. Ces échantillons sont placés en divers points du local. La transformation de la teinte rouge en teinte bleu violet prouve que les échantillons ont subi le contact des vapeurs aldéhydiques.

Les procédés ci-dessus peuvent être *combinés*. On fait une dissolution d'une partie de gélatine dans deux parties d'eau. On l'additionne de quelques gouttes de fuchsine. Pendant que le mélange est encore chaud on le coule dans un cylindre de verre de 5 à 6 cm. de diamètre et d'une hauteur égale à ce diamètre. Le bloc de gélatine coloré en rouge est retiré du cylindre. Une fois refroidi, il peut servir pour les expériences. Suivant que la coloration du bloc se fera plus profondément on pourra déduire que la durée d'action des vapeurs a été plus longue et plus intense.

Le procédé de Calmette et Rolants est une simple variante. On utilise du sérum liquide de cheval additionné de quelques gouttes d'une solution de fuchsine et l'on sèche à 40°. Ce sérum réduit en paillettes rouges brillantes se redissout facilement dans l'eau à laquelle il abandonne immédiatement sa matière colorante. Mais, si on le soumet à l'action de l'aldéhyde formique, une fixation se fait immédiatement. Le sérum devient insoluble dans l'eau et retient sa matière colorante qui ne passe plus dans ce liquide.

1. Trillat (A.). *C. R. Ac. Sc.*, 1892 et 1893. *Loc. cit.* — Roux (G.), Trillat (A.). *Ann. Institut Pasteur*, 1896, p. 296.

L'inconvénient de ces procédés est d'être trop sensibles et de réagir dans des désinfections tout à fait insuffisantes [1].

3. *Dosage du formol.* Le seul procédé qui, à notre connaissance, ait été utilisé est celui de Jörgensen.

On utilise des morceaux de papier d'une surface de 175 centimètres carrés et d'une épaisseur de 1 millimètre, dégraissés et hygroscopiques, qui ont été préalablement tarés dans des capsules de verre fermées. Ces papiers sont disposés avec des épingles en divers points du local. On les laisse capter la vapeur d'eau de l'atmosphère, ce qui demande environ deux heures. On commence alors la vaporisation du formol. Après la désinfection, ces papiers sont remis dans leurs récipients de verre, tarés de nouveau. La différence de poids représente la vapeur d'eau plus les vapeurs de formol.

Les papiers sont alors lavés à l'eau et, dans la dissolution, on dose volumétriquement l'aldéhyde formique par le procédé à l'iode.

C'est à ce groupe qu'appartient la méthode au β-naphtol que nous proposons d'appliquer au contrôle de la désinfection d'après les expériences suivantes, choisies parmi plusieurs autres.

Expérience I.

Désinfection d'une pièce close et obscurcie d'une capacité de 26 mètres cubes, non meublée, par vaporisation totale à l'intérieur de celle-ci de 260 cc. de formol du commerce contenant 98,8 gr. d'aldéhyde formique, soit 3,8 mgr. par m^3. Température : 18°. Etat hygrométrique : 75.

Après 6 heures de contact, on prélève une trentaine de litres d'air, au moyen d'un tube métallique traversant la serrure d'une porte et pénétrant, à cette hauteur, jusqu'au milieu de la pièce et d'une poire aspirante et foulante reliée à un sac en caoutchouc.

Apporté aussi rapidement que possible au laboratoire, le sac est relié à un aspirateur par écoulement, par l'intermédiaire de deux tubes à boules contenant chacun 25 cc. d'eau distillée.

Après passage de 25 litres d'air (volume ramené à 0° et 760 mm.), le contenu des tubes barboteurs est soumis au dosage par le β-naphtol.

D'autre part, la qualité de la désinfection est vérifiée par une épreuve bactériologique : stérilisation d'une culture de *Bacillus subtilis* exposée dans le local.

Résultats.

Bonne désinfection au point de vue bactériologique.

Aldéhyde formique retrouvé dans le local, par litre d'air : 2 mg. 0.

1. Bonjean (E.). *Rev. d'hyg.*, 1913, p. 1325.
2. Jörgensen (A.). *Zeits. f. Hyg.*, 1903, XC, p. 271.

Expérience II.

Mêmes conditions que précédemment. Mais, par suite d'un accident survenu au foyer employé pour la vaporisation du formol, une partie seulement de ce corps est vaporisée. Le reste est polymérisé au fond du récipient de chauffage.

Après 6 heures de contact, on prélève comme ci-dessus une trentaine de litres d'air. L'analyse porte sur 24 litres 500.

Résultats.

Mauvaise désinfection au point de vue bactériologique.

Aldéhyde formique retrouvé dans le local, par litre d'air : 0,03 mg.

Le dosage du formol au moyen du β-naphtol sur un échantillon de 25 litres d'air permet donc de contrôler chimiquement la désinfection d'un local.

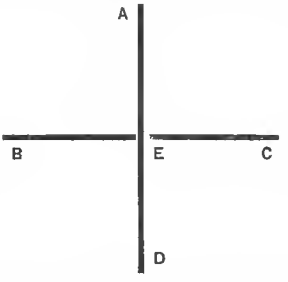
Ce dosage, après un prélèvement opéré dans des conditions un peu différentes, permet en outre d'étudier comment s'opère la diffusion, ce qui peut présenter un certain intérêt tant dans le cas présent qu'en hygiène industrielle (air des ateliers où l'on manipule le formol).

RECHERCHES SUR LE MODE DE DIFFUSION DE L'ALDÉHYDE FORMIQUE

Nous nous sommes proposé d'examiner comment s'opère la diffusion de l'aldéhyde formique à la température moyenne des locaux d'habitation, en atmosphère calme et suivant les trois coordonnées de l'espace, à l'instar d'un travail déjà effectué par Heim de Balsac et Dagand avec les vapeurs de tétrachlorure de carbone, de sulfure de carbone, de nitrobenzine, d'aniline, de pentachloréthane, de tétraéthylplomb [1].

Les déterminations ont été effectuées en fonction du temps, de la distance et de la position dans l'espace du point considéré par rapport à la source d'émission.

Mode opératoire. Deux barres en fer de 2 mètres de longueur sont disposées en croix au centre du local ci-dessus dont les dimensions sont : 5 m. × 2 m. × 2 m. 65. Le point de rencontre E des deux barres forme le lieu d'émission de vapeurs.



A, B, C, D sont les points de prélèvement dont on fait varier la distance au point d'émission de manière que AE = BE = CE = DE.

Le point d'émission est muni d'une capsule de 1000 cc. dans laquelle on provoque un dégagement de vapeurs d'aldéhyde formique suivant le procédé au permanga-

1. Heim de Balsac (F.), Dagand (S.). *Hygiène et industrie.* Paris, Centre de biologie industrielle du Conservatoire National des Arts et Métiers, 1936, fascicule III, p. 135.

nate [1]. La surface de dégagement est de 80 centimètres carrés. En A, B, C, D, sont disposées des capsules contenant une égale quantité d'eau distillée et offrant chacune une surface libre de 24 centimètres carrés aux vapeurs d'aldéhyde formique.

On opère pour des distances de 30, 60, 100 centimètres du point d'émission et pour des temps de 30 minutes, 60 minutes, trois heures et six heures.

La pièce est maintenue obscure et on n'y pénètre que pour la mise en marche et l'arrêt des expériences. La température moyenne est de + 16° C. et l'état hygrométrique de 72. Le dégagement de vapeurs d'aldéhyde est produit de la manière suivante. On dispose au fond de la capsule 20 gr. de permanganate de potassium pulvérisé puis on verse 70 cc. d'un mélange en parties égales de formol commercial à 40 % et d'eau [2].

La porte est immédiatement fermée et jointoyée avec des bandes de papier. Après dix à douze secondes, les vapeurs d'aldéhyde formique se dégagent en un épais nuage. Le dégagement dure environ un quart d'heure.

Après le temps de contact imparti par les diverses expériences, l'opérateur, muni d'un masque respiratoire, pénètre dans le local et enlève rapidement les diverses capsules.

Le contenu de chacune des capsules de captation est immédiatement analysé au moyen du β-naphtol.

Entre chaque expérience, le local est aéré pendant douze heures par ouverture de portes situées aux deux extrémités.

Expérience I.

Durée : 30 minutes

Distance en cm. de A, B, C, D, au point d'émission.	Diffusion en direction (mgr. d'aldéhyde formique)		
	Supérieure.	Latérale.	Inférieure.
30 cm.	1,4	0,12 — 0,15	0,12
60 cm.	1,4	0,12 — 0,20	0,02
100 cm.	1,2	0,15 — 0,18	0,04

1. Darr (R.), Raubitschek (H.). *Journ. Pharm. et Chimie*, 1911, t. IV, p. 79. — Gaud (F.). *C. R. Ac. Sc.*, 1906, t. CLXII, p. 361.

2. Les quantités employées représentent environ le 1/6 de ce qui serait nécessaire pour une désinfection.

Expérience II.

Durée : 60 minutes

Distance en cm. de A, B, C, D au point d'émission	Diffusion en direction en mgr. d'aldéhyde formique		
	Supérieure	Latérale	Inférieure
30 cm.	1,42	0,22 — 0,25	0,20
60 cm.	1,60	0,18 — 1,15	0,20
100 cm.	1,00	0,22 — 0,28	0,20

Expérience III.

Durée : 3 heures

Distance en cm. de A, B, C, D au point d'émission	Diffusion en direction en mgr. d'aldéhyde formique		
	Supérieure	Latérale	Inférieure
30 me.	1,96	0,55 — 0,82	0,60
60 cm.	1,42	0,35 — 0,20	0,30
100 cm.	1,60	0,71 — 0,52	0,32

Expérience IV.

Durée : 6 heures

Distance en cm. de A, B, C, D au point d'émission	Diffusion en direction en mg. d'aldéhyde formique		
	Supérieure	Latérale	Inférieure
30 cm.	1,93	0,69 — 0,70	0,40
60 cm.	1,70	1,16 — 0,97	0,10
100 cm.	1,60	0,76 — 0,43	0,45

De ces quelques chiffres on peut tirer les conclusions suivantes : Pour un temps fixé, il y a, en général, décroissance de la richesse en vapeur diffusée du point d'émission à la distance maximum pour laquelle on a opéré.

La diffusion commence à se faire verticalement du point d'émission vers la partie supérieure du local. Dans cette direction, elle est presque complète dès les premières minutes. Suivant leur tension propre, laquelle dépend de leur température et de leur densité, les vapeurs se répandent ensuite suivant la même voie et pendant plusieurs heures des zones de forte tension vers les zones supérieures de tension

plus faible, par suite d'un degré hygrométrique moins élevé ou d'une température plus basse.

C'est seulement après un temps compris entre trois et six heures que la diffusion devient presque complète latéralement.

CONCLUSIONS

Les procédés de recherche et de dosage de l'aldéhyde formique connus actuellement mettent en œuvre des réactions de coloration, des réactions de précipitation avec ou sans élimination d'eau, des réactions d'oxydation. La plupart manquent de spécificité et de sensibilité ou sont d'une exécution délicate dans leur application au dosage de faibles quantités de formol.

Le procédé très sensible de Fosse, de Graeve et Thomas, basé sur la condensation de l'aldéhyde formique avec le β-naphtol et l'obtention d'un composé facilement caractérisable, le dinaphtolméthane, nous a permis d'examiner la question de l'aldéhyde formique dans trois domaines où le dosage de ce corps en faibles proportions revêt une grande importance. Nos résultats peuvent être résumés de la manière suivante.

Physiologie végétale.

1. L'aldéhyde formique, s'il était présent dans les feuilles vertes, à la dose de 1 milligramme par kilogramme, pourrait être identifié et dosé exactement au moyen du β-naphtol.

2. L'étude systématique des parties vertes de soixante-quatre plantes au moyen de réactif de Schryver considéré comme spécifique du formol a permis d'observer une réaction positive dans vingt-trois cas. Mais la recherche plus sûre effectuée au moyen du β-naphtol permet d'affirmer qu'en aucun de ces cas, cette réaction ne peut être attribuée à la présence de l'aldéhyde formique.

Chimie alimentaire.

1. Outre les raisons signalées plus haut, les difficultés de la recherche et du dosage de l'aldéhyde formique dans les conserves alimentaires tiennent à l'insolubilité des combinaisons albuminoïdes avec l'aldéhyde formique, combinaisons que la distillation ne parvient pas à dissocier, et aux phénomènes de désamination dont peuvent être l'objet les conserves, soit pendant leur stockage, soit pendant la distillation à laquelle on les soumet pour rechercher l'aldéhyde formique.

2. Nous établissons que les acides aminés n'ont aucune influence sur le dosage de l'aldéhyde formique par le β-naphtol et nous proposons une nouvelle méthode de dosage basée sur l'emploi d'un extrait chlorhydrique-chlorure de sodium.

3. Appliquant cette dernière méthode, l'examen de quelques produits fumés

montre que la quantité d'aldéhyde y varie entre 0,06 et 0,8 milligrammes pour 100 gr. de substance.

Hygiène.

1. La méthode au β-naphtol permet de doser exactement l'aldéhyde formique contenu dans l'atmosphère.

Appliquée à l'étude de l'atmosphère parisienne, elle a permis d'y déceler le formol à la dose de 0,1 à 7,3 milligrammes dans 100 mètres cubes d'air.

2. Dans l'eau de pluie, à Paris, la quantité d'aldéhyde formique est de l'ordre de 0,02 milligramme par litre.

3. Cette méthode peut servir au contrôle chimique de la désinfection. Elle permet d'étudier le mode de diffusion des vapeurs toxiques et peut à ce titre rendre des services en hygiène industrielle.

Pierre André. Imp. Paris.

ERRATA

Page 9, *ligne* 18, *au lieu de* : Wellingtion, *lire* : Wellington.

— 19, *note* 3, *ligne* 2, *au lieu de* : $C^{55}H^{70}ON^4Mg$, *lire* : $C^{55}H^{70}O^6N^4Mg$.

— 23, *ligne* 24, *au lieu de* : signification, *lire* : lignification.

— 25, — 28, — oxydrique, — oxydique.

— 26, — 18, — CO^2, — O^2.

— 29, — 23, — sans pression, — sous pression.

— 52, — 9, *après* : teint à la fuchsine, *lire* : puis le dosage sous la forme de tétraméthyldiamidodiphénylméthane.

— 54, *ligne* 21, *après* : l'air aspiré, *lire* : et la condensation en tétraméthyldiamidodiphénylméthane.

— 59, *expérience* II, *au lieu de* : SO^2H^2, *lire* : SO^4H^2.

Prix : **35** francs

IMPRESSIONS
- P. ANDRÉ -